

SÉRIE A, N° 579
N° D'ORDRE : 1309

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

M. Jean DAUPHIN

PRÉPARATEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS
PROFESSEUR A L'ÉCOLE ALSACIENNE

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES MORTIÉRELLÉES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le *27* juin 1908 devant la Commission d'examen.

MM. Y. DELAGE..... *Président.*

HAUG } *Examineurs.*
MATRUCHOT }

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

—
1908

SÉRIE A, N° 579
N° D'ORDRE : 1309

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

M. Jean DAUPHIN

PRÉPARATEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS
PROFESSEUR A L'ÉCOLE ALSACIENNE

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES MORTIÉRELLÉES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le **27** juin 1908 devant la Commission d'examen.

MM. Y. DELAGE..... *Président.*

HAUG } *Examineurs.*
MATRUCHOT }



PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1908

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

MM.

Doyen.	P. APPELL, <i>Professeur.</i>	Mécanique rationnelle.
Doyen honoraire.	G. DARBOUX —	Géométrie supérieure.
Professeurs honoraires.	L. TROOST. Ch. WOLF. J. RIBAN.	
	LIPPMANN.	Physique.
	BOUTY.	Physique.
	BOUSSINESQ.	Physique mathématique et Calcul des probabilités.
	PICARD.	Analyse supérieure et Al- gèbre supérieure.
	H. POINCARÉ.	Astronomie mathématique et Mécanique céleste.
	Yves DELAGE.	Zoologie, Anatomie, Phy- siologie comparée.
	G. BONNIER.	Botanique
	DASTRE.	Physiologie.
	DITTE.	Chimie.
	GIARD.	Zoologie, Évolution des êtres organisés.
	KOENIGS.	Mécanique physique et ex- périmentale.
	VÉLAIN.	Géographie physique.
Professeurs.	GOUSAT.	Calcul différentiel et calcul intégral.
	CHATIN.	Histologie.
	PELLAT.	Physique.
	HALLER.	Chimie organique.
	JOANNIS.	Chimie (Enseign ^t P. C. N.)
	JANET.	Physique — —
	WALLERANT.	Minéralogie.
	ANDOYER.	Astronomie physique.
	PAINLEVÉ.	Mathématiques générales.
	HAUG.	Géologie.
	TANNERY.	Calcul différentiel et calcul intégral.
	RAFFY.	Application de l'Analyse à la Géométrie.
	HOUSSAY.	Zoologie.
	LE CHATELIER.	Chimie.
	N.	Chimie biologique.
	N.	Zoologie, Anatomie, Phy- siologie comparée.
	N.	Physique.
	PUISEUX.	Mécanique et Astronomie.
	LEDUC.	Physique.
	HADAMARD.	Calcul différentiel et calcul intégral.
Professeurs adjoints.	MATRUCHOT.	Botanique.
	MICHEL.	Minéralogie.
	DAGUILLON.	Botanique.
	BOUVEAULT.	Chimie organique.
	BOREL.	Théorie des fonctions.
	PRUVOT.	Zoologie, anatomie, phy- siologie comparée
	CAULLERY.	Zoologie, évolution des êtres organisés.
Secrétaire.	A. GUILLET.	

A MADAME

CHARLES D'ABBADIE D'ARRAST

EN SOUVENIR DE

Monsieur CHARLES D'ABBADIE D'ARRAST

ET DE Mademoiselle LISETTE D'ABBADIE D'ARRAST.

Témoignage d'affectueuse et profonde reconnaissance.

Paris, 11 mai 1908.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

CONTRIBUTION

A

L'ÉTUDE DES MORTIÉRELLÉES

Par M. J. DAUPHIN

INTRODUCTION

La biologie des champignons est à l'heure actuelle un vaste champ ouvert à l'investigation de tous les chercheurs. Les devanciers n'ont rien laissé, ou presque rien, à glaner dans le domaine de la morphologie et de l'anatomie. Ils ont tout décrit, tout examiné, sinon en fait, du moins par la pensée. C'est surtout dans le domaine de la physiologie et de la biologie que le chercheur de l'avenir pourra espérer trouver des faits nouveaux qui, en s'accumulant peu à peu, finiront par nous éclairer sur le mode d'existence et le développement de nombreux êtres vivants qu'on ne soupçonnait guère il y a cinquante ans.

Aujourd'hui, on a une tendance trop facile à émettre des hypothèses scientifiques. On observe un fait et, l'imagination aidant, on part de ce fait pour échafauder tout un système (qu'on érigerait pour un peu en une loi absolue), concernant la vie et le développement d'organismes dont l'existence se peut à peine déceler, même à l'aide des instruments les plus perfectionnés. J'ai cherché, j'ai observé quelques faits. Je les apporte ici, très modestement, comme une faible contribution à l'édifice considérable de la biologie des Mucorinées.

La lecture attentive de quelques mémoires originaux et non des moins connus dans la science, m'a montré que nous ne

savons pas grand'chose de la vie des êtres inférieurs. Tant de facteurs interviennent dans leur développement, qu'il est juste de dire, malgré tous les faits accumulés, que nous ignorons, en somme, presque complètement la biologie des champignons.

J'avais d'abord l'intention d'étendre mes recherches à la physiologie des Mucorinées en général, mais je me suis aperçu bien vite que le sujet était beaucoup trop vaste et qu'il était préférable de restreindre le champ de mes expériences à une seule espèce; j'ai choisi le *Mortierella polycephala* parce que les champignons de ce groupe sont peu connus, mais il faut reconnaître que leur étude offre des difficultés pratiques qu'on ne rencontre pas chez les autres Mucorinées.

Dans le travail qui va suivre, je commencerai par faire un résumé très court de l'histoire des travaux concernant les Mucorinées; j'étudierai ensuite la systématique du groupe des Mortiérellées (1), puis j'aborderai la description et la physiologie du *Mortierella polycephala*.

J'exprimerai tout d'abord ma reconnaissance à M. le professeur Matruchot qui, dans ses leçons à la Sorbonne en 1900, m'a initié aux études si intéressantes de la Cryptogamie et qui n'a cessé depuis ce temps, et chaque fois que l'occasion s'en présentait, de m'aider de ses conseils et de son expérience.

J'adresserai aussi tous mes remerciements à M. le professeur Gaston Bonnier, membre de l'Institut, qui a bien voulu, depuis longtemps, m'ouvrir les portes de son laboratoire et à M. Henri Fischer, maître de conférences adjoint de zoologie à la Faculté des Sciences, qui m'a donné toutes facilités pour mener à bien ce travail.

Je n'oublierai pas M. le professeur Curie, si tôt enlevé à la science et dont l'accueil fut toujours encourageant pour ceux qui ont pu le voir et profiter de ses conseils.

Ce travail, commencé au laboratoire de Botanique de la Sorbonne, a été terminé au laboratoire du P. C. N.

(1) Je laisserai de côté, dans cette étude, le genre *Herpocladium* Schroeter, et je ne m'occuperai que du genre *Mortierella* le plus important de la famille des Mortiérellées.

HISTORIQUE

Les travaux qui traitent des Mucorinées sont très nombreux, et s'il fallait citer tous les ouvrages parus depuis un demi-siècle sur cette question, la liste en serait longue et peut-être fastidieuse. J'essaierai d'en donner un court aperçu, en m'en tenant, autant que possible, au point de vue physiologique et morphologique.

Avant la publication des travaux de MM. Van Tieghem et Le Monnier, en 1873, l'étude des Mucorinées est à l'état rudimentaire; on pourrait même dire qu'elle est un peu fantaisiste, tant il s'est introduit d'erreurs dans la façon de considérer les champignons inférieurs, de les caractériser et d'en déterminer les affinités. On admet avec Carnoy et Klein [1]*, un polymorphisme qui ramène à une seule et même origine des types aujourd'hui reconnus comme bien différents. MM. Van Tieghem et Le Monnier [5] s'élèvent avec juste raison contre un polymorphisme exagéré qui tend à réunir sous une même espèce un *Mucor racemosus* et un *Botrytis*, un *Pilobolus* et un *Mucor* et surtout à prétendre à la transformation de ces champignons l'un dans l'autre.

De Bary et Woronine avaient bien, quelques années auparavant, préconisé l'usage des cultures pures, mais ils se contentaient de cultiver sur porte-objet découvert, de sorte qu'ils ne donnaient pas à la méthode toute la rigueur qu'elle doit comporter et c'est ainsi qu'ils en arrivaient à confondre *Mucor Mucedo*, *Mucor bifidus*, *Mucor racemosus*, *Thamnidium elegans*, et *Chaetocladium Jonesii* [4].

Les recherches de Brefeld, en 1872, celles de Van Tieghem et Le Monnier en 1873, 1875 et 1876, en même temps qu'elles introduisaient dans la Science une méthode de recherches des plus rigoureuses et des plus précises, remettaient bien des choses au point.

* Les chiffres entre crochets renvoient à l'index bibliographique.

Brefeld, en 1872, montre l'indépendance des deux genres *Mucor* et *Chaetocladium*; MM. Van Tieghem et Le Monnier [5] [6] [7] en suivant depuis la spore le développement de nombreuses espèces, font connaître des types nouveaux et bien caractérisés, et donnent des détails intéressants sur la biologie des Mucorinées. Ils observent les mouvements du protoplasma, la cicatrisation facile des blessures, la formation des cloisons et la production des cristalloïdes de mucorine. Parmi de nombreuses espèces de Mucorinées, ces auteurs décrivent dix espèces nouvelles de *Mortierella* et en établissent la classification. Ils décrivent les différents organes reproducteurs qu'on rencontre dans cette tribu, les stylospores échinées, les chlamydospores, les sporanges et les zygosporés dont ils observent la formation chez le *Mortierella nigrescens*. Ils attribuent surtout à l'appauvrissement en oxygène et au ralentissement qui en résulte dans la combustion respiratoire, l'apparition des zygosporés et des azygosporés. « La plante forme tout d'abord, dans un milieu très nutritif, des chlamydospores; lorsque la pression de l'oxygène dans l'atmosphère arrive à descendre au-dessous d'une certaine valeur, la plante, supposée encore abondamment pourvue de protoplasma, ne peut plus former de sporanges; elle consacre alors tout son protoplasma à produire des zygosporés ou des azygosporés; elle se conserve » [7] (p. 323).

Brefeld, à peu près à la même époque, détermine une nouvelle espèce de *Mortierella*, *Mortierella Rostafinskii* [40] et en décrit la zygosporé; mais il n'observe pas les stylospores échinulées que M. Van Tieghem considère comme caractéristiques des Mortiéréllées.

M. G. Bainier, en 1883 [40], décrit quelques espèces nouvelles de Mucorinées et, la même année, publie quelques remarques concernant la formation des zygosporés. M. G. Bainier déduit de ses expériences que la nature du substratum a beaucoup d'importance sur la production des zygosporés : « Il ne suffit pas que la nourriture soit convenable, il faut qu'elle soit disposée convenablement; il faut que le thalle puisse s'étendre soit en largeur, soit en profondeur lorsque les zygosporés se forment dans la masse du substratum. L'excès d'humidité empêche la formation des zygosporés; la tempéra-

ture et l'absence de parasites ont aussi une influence » [12], (p. 343 et suiv.).

M. Vuillemin, en 1887, publie une étude biologique intéressante sur les champignons et décrit plusieurs espèces nouvelles de Mucorinées [13]. Il étudie en détail la formation des appareils reproducteurs et en particulier celle des zygospores ; pour *Mucor heterogamus*, il admet que la différence des deux branches copulatrices est le résultat d'une différence d'alimentation et par suite un simple phénomène végétatif et non pas une différence sexuelle. « Le filament qui porte les branches copulatrices de la zygospore est l'homologue du support du sporange ; la cloison qui isole le gamète est l'homologue de la columelle et les gamètes eux-mêmes ont la même origine et la même valeur morphologique que les sporanges. Les gamètes quoique inégaux, ne présentent pas de différence sexuelle. »

En 1891, M. Alfred de Wèvre [14] étudie les Mucorinées au point de vue histologique.

M. Dangeard, puis M. Léger [15] à [18], dans une série de notes parues dans le *Botaniste* de 1894 à 1898, ou dans les Comptes Rendus de l'Académie, donnent des renseignements intéressants sur la structure histologique des Mucorinées et de leur noyau, sur les variations qu'elle présente, sur la distribution des noyaux dans le thalle, le sporange et les spores. Ils constatent que les renflements qui doivent se fusionner pour former les zygospores contiennent de nombreux noyaux.

M. Dangeard, de son côté, étudie plus spécialement dans le *Botaniste* [15] l'influence du mode de nutrition dans l'évolution de la plante et arrive à cette conclusion que la reproduction sexuelle n'est qu'une modification de l'autophagie primitive.

M. Matruchot [21], en 1899, décrit une structure particulière du protoplasma chez *Mortierella reticulata*. Il étudie l'action des pigments bactériens en nature sur le protoplasma des organismes vivants, et il préconise une méthode de coloration qui lui a très bien réussi. Il obtient de très bonnes colorations du contenu cellulaire de *Mortierella* par le pigment d'organismes chromogènes, tels que *Bacillus violaceus*, *Bacterium violaceum* et *Fusarium polymorphum*.

Dans un ouvrage remarquable et fort bien documenté,

Klebs, en 1896 et 1898 [23], étudie la morphologie et la physiologie d'*Eurotium repens*, de *Mucor racemosus* et de *Sporodinia grandis*. Il recherche l'influence de l'humidité et de l'oxygène, de la température et de la lumière, de la nourriture sur la formation des spores et des zygospores. Comme j'aurai plusieurs fois à citer cet auteur dans la suite de ce travail, je ne m'étendrai pas plus longuement sur ses travaux bien connus.

Alfred Lendner, en 1897 [25], étudie l'influence combinée de la lumière et du substratum sur le développement des champignons. Les résultats qu'il donne sont très variables. Sur un substratum solide, toutes les Mucorinées mises en expérience ont développé partout des sporanges; une différence s'est fait sentir seulement dans la longueur des filaments sporangifères qui peuvent être plus du double plus longs dans l'obscurité, la lumière rouge et la lumière jaune. Dans les milieux liquides, l'influence de la lumière varie selon l'espèce. Lendner considère que la cause déterminant l'apparition des sporanges réside plutôt dans un phénomène de nutrition. L'action des rayons lumineux est secondaire, quoique manifeste pour certaines espèces et variable suivant les milieux.

Bien avant Lendner, Fries, de Bary, Brefeld, Klein, Bachmann avaient étudié l'action de la lumière sur les champignons et indiquaient des résultats sensiblement différents suivant les auteurs.

Hans Bachmann, en 1900 [45], décrit une nouvelle espèce de *Mortierella*, le *Mortierella Van Tieghemi*, et en fait une étude biologique approfondie, mais il est possible que tous les résultats qu'il indique sur la physiologie de ce champignon ne soient pas absolus, car toutes ses cultures ne sont pas faites en milieux stérilisés, et l'auteur lui-même ajoute, que le manque d'appareil de stérilisation à tension de vapeur, l'oblige à rechercher l'action des bactéries sur le *Mortierella Van Tieghemi*.

En 1903, M. Matruchot décrit *Cunninghamella africana* et montre que c'est là une Mucorinée végétant uniquement sous forme conidienne [46].

Enfin, plus récemment, dans une série de notes publiées de

1904 à 1907, M. Francis Blakeslee [30] à [33] étudie les Mucorinées plus spécialement au point de vue de la reproduction sexuelle.

Il établit que la production des zygospores chez les Mucorinées dépend avant tout de la nature particulière de chaque espèce et ensuite, secondairement, des facteurs extérieurs.

En considérant le mode de formation des zygospores des Mucorinées, il les divise en deux groupes principaux qu'il désigne respectivement sous les noms de *Homothalliques* et *Hétérothalliques*.

Dans le groupe des Homothalliques, comprenant la minorité des espèces, les zygospores se développent aux dépens de filaments du même thalle ou du même mycélium et elles peuvent être obtenues en partant de la germination d'une seule spore.

Dans le groupe des Hétérothalliques, comprenant probablement la grande majorité des espèces, les zygospores se développent aux dépens de filaments issus de thalles ou de mycélium différents et ne peuvent jamais être obtenues par germination d'une seule spore.

Les filaments sexuels d'une même espèce présentent en général une différence plus ou moins marquée dans la puissance de leur développement, différence que l'auteur indique conventionnellement par le signe $+$ ou le signe $-$.

Dans les espèces hétérothalliques, on trouve des filaments qui ne peuvent réagir avec les filaments $+$ ou $-$ de la même espèce ; ce sont les filaments *neutres*.

ÉTUDE SYSTÉMATIQUE DE LA FAMILLE DES MORTIÉRELLÉES

Vingt-sept espèces différentes se rattachent au genre *Mortierella*; une espèce, qui n'est peut-être pas un *Mortierella*, mais plutôt un *Hydrophora*, a été décrite par Bonorden sous le nom de *Mortierella umbellata*; Fischer la considère comme un *Hydrophora*.

Le genre *Mortierella* a été créé, en 1863, par le botaniste belge Coëmans, qui lui a donné ce nom en l'honneur de M. B. du Mortier, président de la Société Botanique et Membre de l'Académie Royale de Belgique.

Coëmans a découvert le champignon nouveau, vivant en parasite sur les grands champignons en voie de décomposition, où il forme un duvet blanc, laineux, très fin et très délicat. Il disparaît promptement dans les herbiers.

« Au microscope, il se montre formé d'un système radicellaire peu remarquable, de filaments mucoréens rampants, non cloisonnés, très longs et peu rameux, enfin de cellules fructifères dressées, très nombreuses et disposées ordinairement sur des gonflements gibbeux de la tige.

« Les cellules fructifères sont comparativement courtes ($1/4$ à $1/3$ de mm.), renflées vers le milieu et effilées vers la pointe que termine un assez gros sporange. Sous celui-ci s'en trouvent d'autres (2 à 9) d'ordinaire plus petits portés sur de courts pédicelles et disposés en faux verticilles, irrégulièrement espacés.

« Les sporanges sont incolores, oligosporés (4 à 20), dépourvus de sporophore intérieure, et renfermant des spores incolores, ovales ou arrondies dont le contenu est homogène ou présente parfois un nucléus central. Quant à la dimension des spores, elle est trop variable pour qu'on puisse s'en servir comme caractère; elle est ordinairement proportionnelle au volume du sporange et varie souvent dans un même réceptacle. Les spores se forment par voie de génération libre comme dans les Mucorinées.

« Le développement des cellules fructifères n'offre rien de très remarquable. Après s'être dessinée comme un mamelon conique ou arrondi, la cellule fructifère s'élève sous forme de stolon opaque et obtus, dont le sommet s'étrangle et devient un premier sporange, le sporange terminal. Le pédicule de celui-ci, sensiblement plus mince que le reste de la cellule, s'allonge, ensuite et émet sur le côté quelques légères saillies qui grandissent et deviennent à leur tour des pédicelles portant les sporanges latéraux. Chaque sporange est séparé de son pédicelle par une petite cloison, la seule qu'offre la plante. Après quatre ou cinq jours, la paroi sporangienne se rompt et tombe avec les spores, tandis que le tronc de la cellule fructifère subsiste encore un couple de jours avant de s'affaïsser définitivement. »

Cette étude, quoique incomplète, permet cependant à Coëmans de définir les caractères du *Mortierella* n. g. et de le placer à côté des *Mucor* à cause de la nature de ses membranes, de la forme des sporanges, de son port et de tous ses autres caractères; et il le définit de la façon suivante :

Mortierella n. g. Coëmans.

Mycélium de Mucorinées, parasite sur divers champignons,



Fig. 1. — *Mortierella polycephala*. — a, Groupe de cellules fructifères pleinement développées, gr. 110; b, Jeunes cellules fructifères au moment de la formation des sporanges, gr. 110; c, Groupe de cellules fructifères offrant les variations extrêmes pour le nombre des sporanges (110); d, Spores ordinaires (220); e, Spores nucléées (220). Reproduit d'après Coëmans (Bulletin de l'Ac. Royale des Sciences, des lettres et beaux-arts de Belgique, 22^e année, 2^e série, t. XV, 1863).

superficiel en grande partie, étalé, incolore. Cellules fructifères dressées, renflées, ramifiées, à plusieurs têtes. Sporangies oli-

gospores, dépourvus de columelles ou de néosporanges. Spores de mucorinées.

Le *Mortierella polycephala* que Coëmans étudie pour la première fois est caractérisé comme il suit :

« Hyphes rampants, incolores, très longs, peu enchevêtrés, parfois renflés ; cellules fructifères courtes, très nombreuses, groupées en faisceaux, atténuées à la partie supérieure, ramifiées ; rameaux courts, étalés, terminés par un sporange arrondi ; sporanges incolores, à demi transparents, 4-20 spores lisses ; spores ovales ou arrondies.

HABITAT : sur *Polyporus* et *Dædalea* (fig. 1).

Mortierella crystallina (C. O. Harz).

En janvier 1871, le Dr C. O. Harz découvre sur des feuilles de *Trametes suaveolens*, sur des feuilles de chêne et de hêtre habitées par plusieurs Mucorées, un champignon qu'il désigne sous le nom de *Mortierella crystallina* (Bull. Soc. Imp. Nat. Moscou, t. XLIV, 1871).



Fig. 2. — *Mortierella crystallina*, gr. 230. Reproduit d'après le Dr C. O. Harz (Einige neue Hyphomyceten, Bulletin de la Soc. des Natur. de Moscou, 2^e série, 1871).

« Le mycélium manque ; les hyphes poussent droits, renflés à la base, resserrés à la moitié de la hauteur jusqu'à la pointe, ramifiés. A la pointe de l'hyphe muni de 4 à 7 branches latérales, se trouve un « périodiole » avec 15 à 100 conidies ou plus. Ces « périodioles » arrondis, blancs incolores, ou munis de gros noyaux, ont une épaisse membrane externe. Tous sont arrondis et de taille assez semblable. Le développement des sphères conidiennes est centrifuge, mais celles qui sont à la pointe des hyphes se développent plus tôt que celles qui poussent plus en bas et latéralement. Le « périodiole » lui-même est très passager »...

Les hyphes fertiles sont transparents comme du verre et le champignon vit en parasite sur le mycélium de différentes Mucorées qui se dessèchent peu à peu (fig. 2).

Mortierella echinulata (C. O. Harz).

A côté de cette espèce, Harz décrit le *Mortierella echinulata* qu'il a découvert vivant en parasite sur le mycélium de diffé-

rentes Mucorées, en particulier sur le *Mucor stercoreus*, qui, envahi par ce champignon, meurt lentement.

Par l'aspect, la taille et les ramifications des hyphes, il est très semblable au précédent. Les hyphes sont remplis de protoplasma semblable à une émulsion presque incolore, à peine teinté de gris. Les hyphes sont quelquefois ramifiés en fourches, à la base. Les sphères conidiennes ont à peu près la même grosseur, mais ne renferment que 4, 6 ou 7 conidies; mais par suite de leur petit nombre, elles sont beaucoup plus grosses que chez *M. crystallina*, arrondies ou presque, avec une membrane externe épaisse, présentant en dehors de fines aiguilles (fig. 3).

Comme on le voit par les descriptions qui précèdent, les auteurs qui ont décrit les espèces *M. polycephala*, *crystallina*, *echinulata*, n'en ont pas suivi le développement ni fait une étude bien approfondie; ils ont ignoré ou ils n'ont pas su voir le mycélium et encore moins les différents organes fructifères; et si l'on se reporte à la description que donne Harz, on est fortement tenté de rapprocher du *M. polycephala* de Coëmans, les deux espèces dont il donne des dessins. Il est vrai que Harz lui-même a soin d'ajouter que *M. crystallina* diffère de *M. polycephala* par les conidies toutes égales, mais ce n'est pas là un caractère spécifique, d'après Coëmans lui-même. Il nous semble donc rationnel sinon d'identifier *M. crystallina* et *M. polycephala*, tout au moins de les considérer comme deux formes très voisines.

M. echinulata resterait donc comme seule nouvelle espèce de *Mortierella* caractérisée par ses spores finement échinulées de 12 à 15 μ de diamètre, arrondies ou ovales.

À l'époque où Harz signalait ces deux espèces nouvelles de *Mortierella*, MM. Van Tieghem et Le Monnier n'avaient pas encore publié leurs mémoires sur les Mucorinées et la plupart des mycologues ignoraient, ou, en tous cas, ne pratiquaient guère la méthode des cultures pures ainsi que celle des cultures en



Fig. 3. — *Mortierella echinulata*, gr. 230. D'après le Dr C. O. Harz (Bull. de la Soc. des Natur. de Moscou, 2^e série, 1871).

cellule qui permet de suivre le développement d'un champignon pendant toute son existence. Ces deux savants ont pu, d'après ces méthodes, étudier non seulement le *Mortierella polycephala*, mais encore dix espèces nouvelles : *M. reticulata*, *M. simplex*, *M. candelabrum* (Ann. des Sc. nat., 1873); *M. tuberosa*, *M. pilulifera*, *M. strangulata*, *M. biramosa* (Ann. des Sc. nat., 1875); *M. nigrescens*, *M. minutissima*, *M. fusispora* (Ann. des Sc. nat., 1876). Depuis cette époque, d'autres auteurs ont décrit de nouvelles espèces.

Je donnerai rapidement ici la caractéristique de chacune d'elles en les accompagnant de figures reproduites d'après les mémoires de ces auteurs. La description est tirée des mémoires originaux.

***Mortierella polycephala* (Coëmans).**

Mycélium continu, ramifié dichotomiquement; tubes sporangifères dressés, souvent réunis en faisceaux, fusiformes, hauts de 250 μ , atténués à l'extrémité, ramifiés; rameaux courts, simples, disposés en grappes, quelquefois en faux verticilles, se terminant par un sporange un peu plus petit. Les sporanges

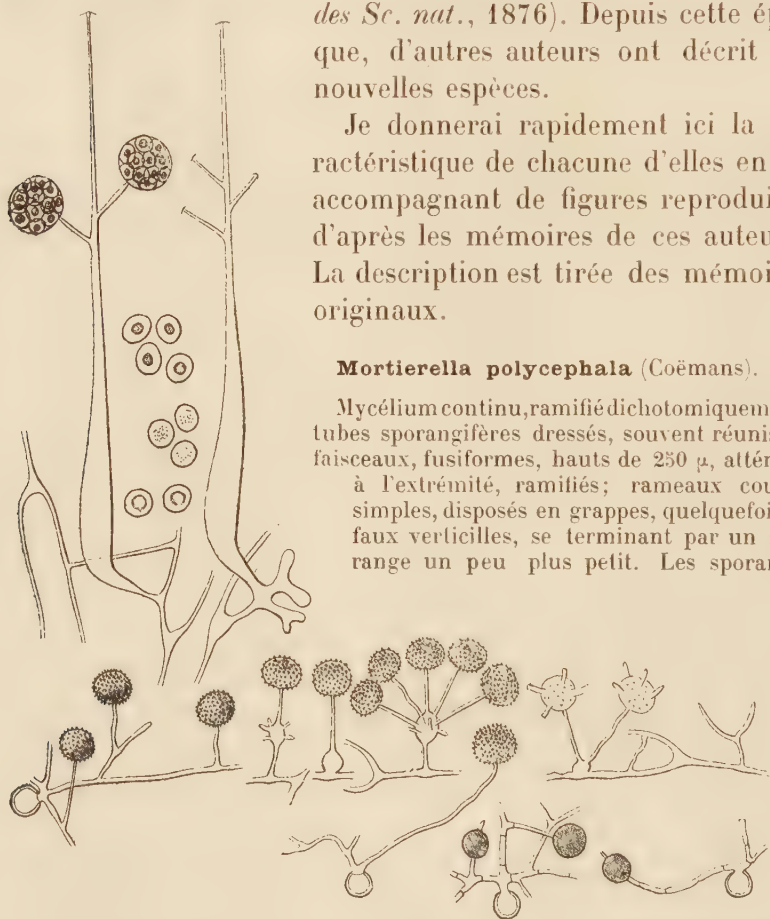


Fig. 4. — *Mortierella polycephala* (Coëm.). On voit les tubes sporangifères ramifiés avec quelques sporanges; le mycélium ramifié en dichotomie et les sporangiospores, gr. 220. En bas les stylospores, gr. 320, avec leurs différents modes d'insertion et les chlamydospores mycéliennes, gr. 320. D'après Van Tieghem et Le Monnier (Ann. des Sc. nat., Bot., 1873).

contiennent de 4-20 spores; ovales ou arrondis, de 10 à 12 μ de diamètre, hyalines. La cloison de séparation est plane.

Les stylospores ou chlamydospores aériennes, finement échinulées, sont

incolores, de 20 μ de diamètre, insérées sur de petits rameaux, seules ou par groupes.

Les chlamydospores aquatiques ou kystes ont environ 10 μ (fig. 4).

Mortierella reticulata (Van Tieghem et Le Monnier).

Filaments fructifères de 150 μ environ, moins effilés que dans *M. polycephala*. Spores au nombre de 2 à 8, souvent 4 dans un sporange; elles ont une membrane externe épaissie en un élégant réseau; leur dimension varie de 16 à 24 μ . — Sur le sporange terminal, quelques rameaux grêles terminés par des sporanges semblables; ces rameaux sont très courts, et au lieu de se

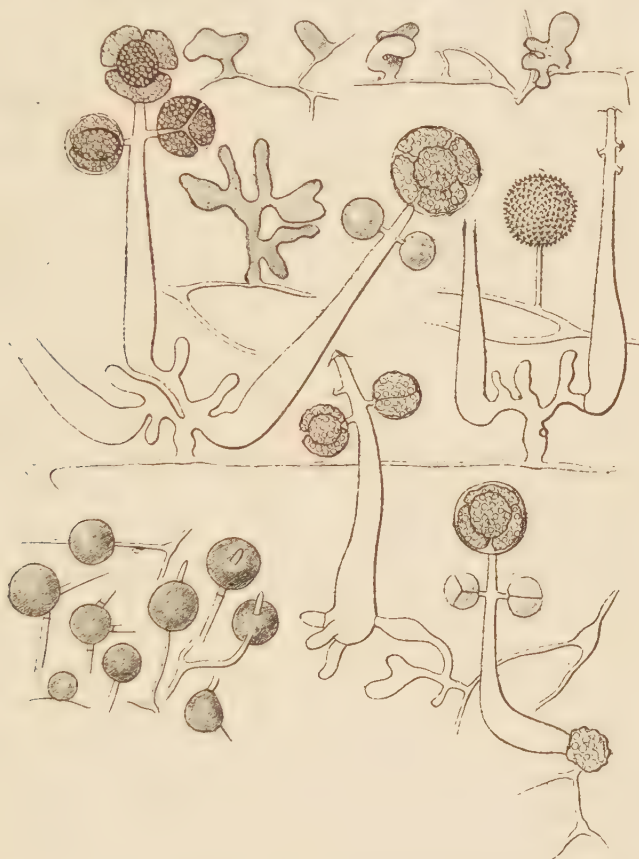


Fig. 5. — *Mortierella reticulata* (Van Tieghem et Le Monnier). Figures montrant les débuts des tubes sporangifères et ces derniers complètement formés, avec leurs sporanges, gr. 250; stylospores, gr. 400; chlamydospores, gr. 300. (D'après Van Tieghem et Le Monnier (Ann. des Sc. nat., Bot., 1873).

relever obliquement vers le haut, ils sont ou horizontaux ou rabattus vers le bas.

Les chlamydospores aériennes sont arrondies, fortement échinulées, portées à l'extrémité de tiges longues, non ramifiées; leur diamètre est de 23 μ .

Mortierella reticulata (var. nov. Matruchot).

Thalle de *Mortierella*. Appareil sporangifère atteignant 250 μ ; parfois 350 μ de hauteur. Branches sporangifères latérales nombreuses, souvent elles-mêmes ramifiées. Chlamydospores aquatiques de 10-15 μ plus petites que dans l'espèce type. Le réseau exosporique des sporangiospores est plus délicat, à trame plus mince et à mailles plus nombreuses que dans l'espèce type précédente (fig. 6)

Mortierella simplex (Van Tieghem et Le Monnier).

Dans cette espèce, les tubes sporangifères, sont dressés, simples; ils peuvent atteindre une hauteur de 0^{mm},7 à 1 millimètre; et sous le sporange, ils conservent encore une assez grande largeur; larges de 60 à 70 μ à la base, ils ont

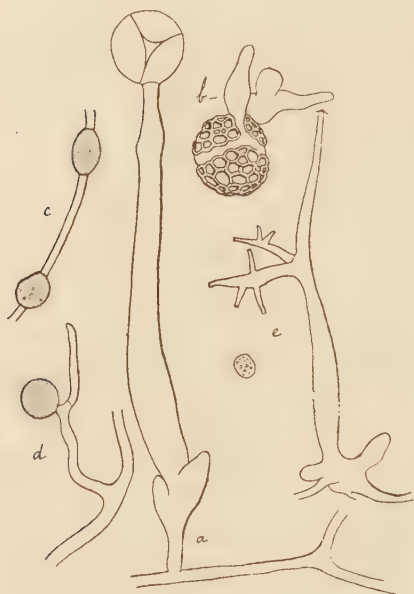


Fig. 6. — *Mortierella reticulata* (var. nov. Matruchot). — a, Mycélium aérien, montrant la ramification en diapason et portant un pied sporangifère; à la base, on voit l'amorce de deux sporanges latéraux, g. 945; b, Spore gonflée commençant à germer, gr. 840; c et d, Mycélium immergé avec spores aquatiques, gr. 480; e, Pied sporangifère ramifié au second degré, spore détachée, gr. 160. (Matruchot. *Miscellanées biologiques dédiées au prof. Giard, Paris, 1900.*)

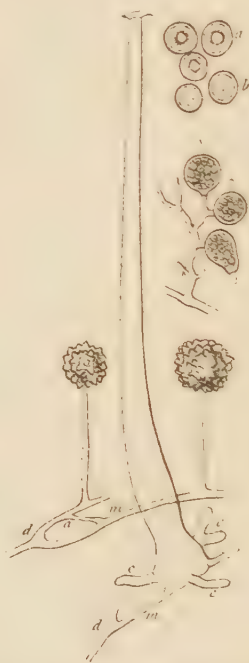


Fig. 7. — *Mortierella simplex* (Van Tieghem). Tube sporangifère, gr. 120; Spores, gr. 320; Stylospores, gr. 400; Chlamydospores, gr. 400 (D'après Van Tieghem et Le Monier, *Ann. Sc. nat., Bot., 1873*).

encore, près du sporange terminal, un diamètre d'environ 10 à 12 μ . Le gros sporange terminal renferme un grand nombre de spores à membrane lisse et hyaline, à protoplasma granuleux, pourvu souvent d'un gros noyau très réfringent, ordinairement sphériques ou ovales, et ayant 10 μ de diamètre; leur forme et leurs dimensions peuvent être très irrégulières dans un même

sporange. Après la déhiscence, la membrane du sporange laisse souvent une petite cupule adhérente autour du bouton qui termine le tube.

Les stylospores sont pédicellées, à membrane épaisse échinulée, d'environ $16\ \mu$ de diamètre. Les chlamydospores aquatiques, plus ou moins arrondies, transparentes, remplies d'un protoplasma granuleux, qui parfois se divise en masses polyédriques, ont un diamètre d'environ 10 à $12\ \mu$.

HABITAT : Sur du terreau humide (fig. 7).

Mortierella candelabrum (Van Tieghem et Le Monnier).

Mycélium de *Mortierella* ; pieds sporangifères dressés, renflés à la base, d'abord simples, puis ramifiés ; les rameaux sont de même renflés à la base, d'abord disposés horizontalement, puis dressés eux-mêmes, et rétrécis vers l'extrémité. Le sporange terminal renferme beaucoup de petites spores



Fig. 8. — *Mortierella Candelabrum* (V. Tieghem et Le Monnier). Port général de la plante ; Tubes sporangifères et sporanges, gr. 120 ; Sporangiospores, gr. 320 ; Chlamydospores mycéliennes, gr. 250. (Van Tieghem et Le Monnier, Ann. des Sc. nat., Bot., 1873.)

arrondies, à paroi mince et lisse, fréquemment pourvues d'un noyau, atteignant de 6 à $4\ \mu$ de diamètre, mais pouvant aller jusqu'à 8 et $10\ \mu$. L'ensemble constitue une sorte de candelabre à pied court, comportant une dizaine de branches courtes dépourvues des rameaux grêles des autres espèces, pouvant atteindre 2 millimètres de hauteur.

HABITAT : Trouvé à la périphérie d'un disque de plâtre contenant de la levure et aussi sur des excréments (fig. 8).

Bainier (*Ann. des Sc. natur., Bot.*, série XV, 1883) a décrit une

espèce, qui est probablement la même, mais où les spores sont

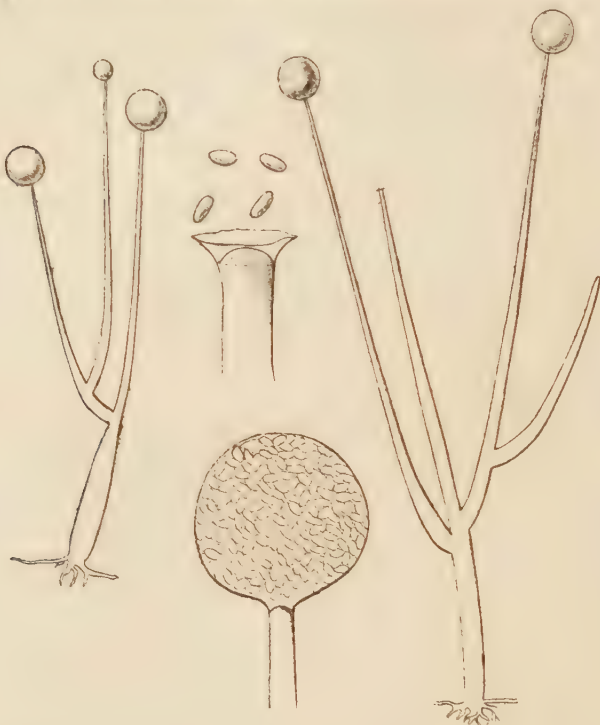


Fig. 9. — *Mortierella candelabrum*. Tubes sporangifères, sporange et sporangiospores (D'après Bainier. Ann. des Sc. nat., Bot., 1883).

petites, ovales, rarement rondes, et mesurent de $6\ \mu$, 3 à $2\ \mu$, 1.

Il l'a trouvée sur des mouches mortes dans une culture de *Saprolegnia ferax*, puis sur des Agarics où elle paraît très commune (fig. 9).

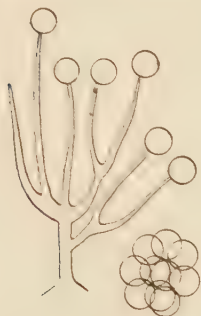


Fig. 10. — *Mortierella candelabrum* (var. *minor* Grove.) Tubes sporangifères et spores (D'après Grove, Journal of botany, 1885).

W. B. Grove B. A. (*Journal of Botany*, 1885), après avoir cité les mémoires des auteurs précédents, décrit ainsi *Mortierella candelabrum*, variété *minor* Grove :

Hyphes fertiles ramifiées depuis le commencement de la base avec de longues branches montantes subulées à la façon d'un candelabre. Spores parfaitement rondes, lisses, hyalines, $10\text{ à }12\ \mu$ de diamètre. Hauteur de $1,3\text{ à }1,5$ millimètres.

HABITAT : Bois pourri, Sulston (W. K.) ; septembre 1885 (fig. 10).

Mortierella diffluens, Sorokine 1874 (Arb. d. naturf. Ges. Kasan).

Sporanges portant de 15 à 18 spores à membrane très diffluente, spores de 9 à 10 μ , à parois épaisses (épispore), hyalines.

C'est toute la description qu'en donne Saccardo dans *Sylloge Fungorum*, vol. VII [1^{re} partie (1)].

Mortierella tuberosa (Van Tieghem et Le Monnier).

Le tube sporangifère de cette espèce peut atteindre jusqu'à 3 centimètres de hauteur; à la base, il est d'abord très grêle, puis brusquement renflé; il s'échappe d'un amas de sphères pleines d'un protoplasma très sombre et qui se vident de dehors en dedans au fur et à mesure qu'il s'allonge. Plus grosses et plus rapprochées que dans *M. pilulifera*, ces sphères sont de véritables tubercules blancs, visibles à l'œil nu, et serrés côte à côte comme de petits œufs. — Le tube fructifère est d'abord rétréci, puis légèrement dilaté à partir de la base jusqu'au sommet.

La cloison basilaire du sporange est assez large, un peu convexe et surmontée d'un bouton brillant.

Les spores développées à l'intérieur du sporange, en même temps qu'une abondante matière mucilagineuse hyaline qui en occupe les interstices, sont un peu inégales et irrégulières; de forme, en général allongées, ovoïdes de 11 à 16 μ de longueur sur 6 à 8 μ de largeur.

La membrane du sporange se rabat, à la maturité; elle n'est pas complètement diffluente.

Les chlamydospores aériennes, légèrement pédicelées, ont une membrane épaisse, recouverte de courtes aspérités; elles mesurent de 20 à 25 μ de diamètre.

Les chlamydospores mycéliennes ont été obtenues en culture cellulaire.

HABITAT : Excréments de rat (fig. 11).

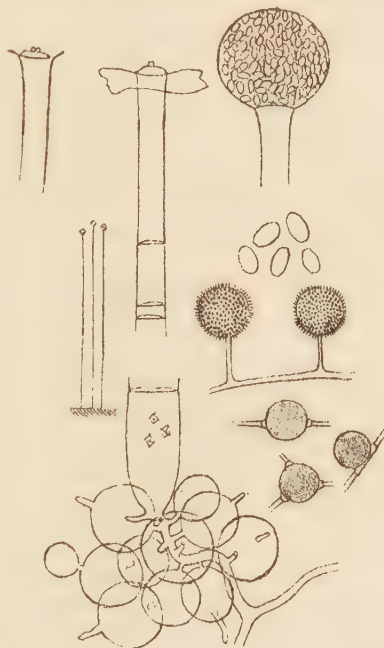


Fig. 11. — *Mortierella tuberosa*. Base et extrémités du tube sporangifère; Sporangies; Sporangiospores, gr. 330; Stylospores, gr. 330; Chlamydospores, gr. 330.

(1) J'ai cherché le travail original dans toutes les bibliothèques de Paris, mais en vain. J'ai écrit à l'université de Kasan pour avoir une copie du mémoire cité, mais en vain; et c'est en vain que je me suis adressé à M. Sorokine lui-même. Je n'ai pas eu de réponse dans ces deux derniers cas.

Mortierella pilulifera (Van Tieghem).

Le tube sporangifère est simple, mais au lieu d'être brusquement étranglé sous le sporange, il est progressivement évasé; la cloison est assez large, un peu convexe vers le haut et souvent épaissie au centre en un bouton brillant. Hauteur : 5 millimètres.

Le sporange est assez petit, clair; sa membrane se résorbe totalement à la maturité en ne laissant autour de la cloison qu'une petite collerette rabattue. Les spores sont ovales et ont de 7 à 9 μ de longueur sur 4 à 5 μ de largeur.

La branche rameuse, insérée sur le filament dichotome rampant, renfle ses

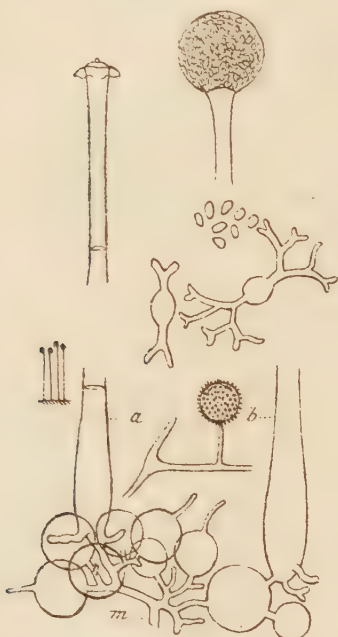


Fig. 12. — *Mortierella pilulifera* (Van Tieghem). Sporange, extrémité et base du tube sporangifère, gr. 90; Sporangiospores et début de germination, gr. 330; Stylospore, gr. 330. (D'après Van Tieghem, Ann. Sc. nat. Bot., 1875.)

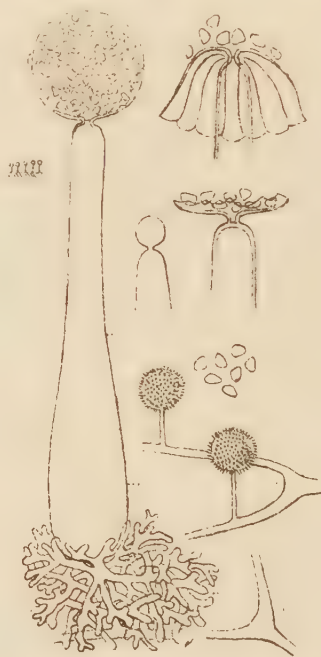


Fig. 13. — *Mortierella strangulata* (Van Tieghem). Tubes sporangifères avec les filaments ramifiés de la base; sporange, gr. 90; deux collerettes de sporanges mûrs, gr. 90; Début de sporange, gr. 90; Sporangiospores, gr. 330; Stylospores, gr. 330. (D'après Van Tieghem, Ann. Sc. nat. Bot., 1875.)

rameaux en grosses sphères, soit à leur sommet, soit en un point quelconque de leur parcours. Toutes ces « pilules » remplies d'un protoplasma très sombre, et plus ou moins rapprochées, sont réunies entre elles par les branches et les portions de branches demeurées grêles. Un peu plus tard, un de ces rameaux grêles, qui peut terminer une de ces grosses sphères ou partir d'une des branches qui les relie, se dresse verticalement en se renflant beaucoup et forme le tube fructifère. Les stylospores sont arrondies, échinulées, portées à l'extrémité de rameaux simples; elles ont un diamètre d'environ 15 μ .

Les chlamydo-spores aquatiques n'ont pas été décrites.

HABITAT : *Excréments de lapin* (fig. 12).

Mortierella strangulata (Van Tieghem).

Mycélium ramifié en dichotomie (diapason), anastomosé, à parois épaisses. Les tubes sporangifères se dressent perpendiculairement à un amas de gros tubes très ramifiés, rapprochés et disposés dans des plans différents. Ils sont légèrement amincis au sommet (25 μ) ; leur hauteur varie de 0^{mm},8 à 1 millimètre ; le tube sporangifère est brusquement étranglé 8 μ au-dessous du sporange. Le sporange est sphérique et présente un diamètre de 80 à 120 μ . La membrane du sporange n'est pas diffluente dans sa moitié inférieure qui persiste en forme de large cupule soutenant à la fois les spores et la matière mucilagineuse qui s'est formée en même temps qu'elles. — Dans l'eau cette cupule se rabat souvent en forme de manchettes plissées.

Les spores sont incolores, parfaitement homogènes, sans exospore distincte ; inégales et de forme irrégulière dans le même sporange, elles présentent souvent une forme triangulaire caractéristique ; quelquefois, elles sont quadrangulaires, ou ovales, ou fusiformes. Dimensions : 6-9 μ .

Sur le mycélium se dressent des stylospores échinulées, sphériques, de 18 à 20 μ de diamètre, hérissées de fines pointes très rapprochées.

HABITAT : Excréments de rat (fig. 13).

Mortierella biramosa (Van Tieghem).

Dans cette espèce, le tube sporangifère, au lieu d'être ramifié en grappe régressive comme dans *M. polycephala*, ou, comme dans *M. candelabrum*, en cyme unipare hélicoïde, rappelant vaguement la forme d'un candélabre, pré-



Fig. 14. — *Mortierella biramosa* (Van Tieghem). Tubes sporangifères et sporanges, gr. 90 ; Sporangiospores, gr. 330 ; Stylospores, gr. 420. (D'après Van Tieghem, Ann. des Sc. nat. Bot., 1875.)

sente à la fois les deux modes de ramification du *M. polycephala* et du *M. candelabrum*. Il y a en même temps de grosses branches en cymes unipares et sur chacune d'elles, comme sur le rameau principal, de petits rameaux verticillés en grappes. C'est, comme le dit l'auteur, une cyme unipare hélicoïde de grappes verticillées régressives.

Le tube sporangifère principal, très renflé à la base, s'appuie sur un certain nombre de courtes branches en doigts de gant, formées d'abord, qui le nourrissent, puis lui servent de crampons. — Il s'effile progressivement vers le haut, avant de se terminer par un sporange sphérique; il a une hauteur de 0^{mm},8 à 1 millimètre. La membrane du sporange sphérique se résorbe complètement à la maturité, laissant en place les spores agglutinées. Pendant le développement de ce tube principal, il naît en un point situé non loin du sommet, un, deux ou trois verticilles de rameaux portant des sporanges de plus en plus petits et inclinés d'environ 45° sur le rameau principal.

Puis à mi-hauteur de ce tube, il naît une grosse branche d'abord horizontale, qui se redresse bientôt vers le haut et se termine en se rétrécissant par un verticille de rameaux semblables, quelquefois deux. A son tour, cette branche secondaire peut, à mi-longueur et du côté de la tige principale, donner de même une nouvelle branche sporangifère terminée par un seul verticille et ainsi de suite. Il peut y avoir 4 ou 5 branches insérées en cyme unipare hélicoïde, mais ce nombre peut être plus réduit.

Les spores inégales sont sphériques et leur diamètre, variant de 6 à 9 μ , va le plus souvent jusqu'à 75 μ .

Les stylospores sphériques ont de 9 à 10 μ de diamètre.

HABITAT : Excréments de rat (fig. 14).

Mortierella nigrescens (Van Tieghem).

Mycélium puissant, aérien, d'un blanc laineux sur l'agaric. Tubes sporangifères dressés, ramifiés dichotomiquement en forme de diapason, sans cloisons comme dans toutes les autres espèces. Tubes mycéliens de 10 à 12 μ d'épaisseur. Rameaux principaux donnant des pinceaux de ramuscules grêles et allongés,



Fig. 15. — *Mortierella nigrescens*. Sporangies et extrémités du tube sporangifère avec collerette et spores, gr. 330. Différents états de la zygospore et œuf. (D'après Van Tieghem, Ann. des Sc. nat. Bot., 1876.)

pénétrant en suçoirs, dans le tissu nourricier. Le protoplasma des tubes mycéliens disparaît de bonne heure et, en même temps, la membrane se cuticularise, s'épaissit, se colore en jaune, puis en brun de plus en plus foncé et alors il y apparaît des cloisons à l'intérieur.

Tubes sporangifères de 1 millimètre à 1^{mm},5 de hauteur; renflés à la base, ils sont légèrement atténués vers le haut où se trouve une cloison légèrement

bombée qui les sépare du sporange terminal. Ramifications du tube sporangifère rappelant celles de *Mortierella candelabrum*.

Spores cylindriques, arrondies aux deux bouts, parfois uniformes de 3 à 4 μ de large sur 6 à 8 μ de long.

Les chlamydo-spores mycéliennes, les stylospores aériennes n'ont pas été rencontrées. Les sporanges sont rares.

Zygos-pores de 0^{mm},1 à 0^{mm},125 entourées d'une enveloppe de plusieurs branches ramifiées, vides de protoplasma, à membrane brune, cuticularisée et rigide.

HABITAT : Parasite sur *Agarics*, *Bolets*, *Lycoperdon*, *Truffe* (fig. 15).

Mortierella fusispora (Van Tieghem).

Mycélium rampant et fugace, très étendu.

Stylospores isolées, parfaitement sphériques, à membrane épaisse, munies de tubercules relativement gros, de 12 μ de diamètre, environ.

Tubes sporangifères toujours simples ne dépassant pas 0^{mm},5 de hauteur. Sporange relativement gros, renfermant des spores caractéristiques, ovales, très allongées, de 5 à 6 μ de large sur 22 à 24 μ de long.

HABITAT : Excréments de lapin (fig. 16).

Mortierella minutissima (Van Tieghem).

Les tubes sporangifères ne dépassent pas 0^{mm},1 de hauteur; ils sont très grêles; ils naissent directement sans appendices en cæcum.

Le sporange ne contient qu'un petit nombre de spores sphériques ou irrégulières à membrane lisse de 8 à 10 μ de diamètre.



Fig. 16. — *Mortierella fusispora*. Tube sporangifère, sporange, spores et stylospore. (D'après Van Tieghem, Ann. Sc. nat., 1876.)



Fig. 17. — *Mortierella minutissima*. (Van Tieghem, Ann. sc. nat., 1876.)

Tube sporangifère ramifié comme dans *M. candelabrum*. Stylospores non observées.

HABITAT : Sur un *Dædalea* (fig. 17).

Mortierella Rostafinskii (O. Brefeld).

Filaments mycéliens étroits, grêles à contenu fin, granuleux et brillant, non cloisonné, ressemblant à celui de *Chaetocladium*.

Appareil fructifère s'élevant d'un épais faisceau de filaments d'où s'échappe le tube sporangifère d'abord étranglé à la base, puis renflé et diminuant graduel-

lement de largeur jusqu'au sporange. Les rhizoïdes sont si nombreux qu'ils forment presque un véritable tissu s'élevant jusqu'à mi-hauteur du tube sporangifère. Ce dernier présente au point où s'attache le sporange, un étranglement dont le diamètre est près de la moitié de celui du tube au même endroit. L'épaisseur de la membrane du sporange est légèrement accentuée à la base et non diffuente en cet endroit où elle se rabat en collerette.

Spores de forme irrégulière, ovales, d'aspect réfringent, dont le diamètre est en longueur $6\ \mu$ et en largeur $5\ \mu$. Elles sont très nombreuses.

Les stylospores n'ont pas été observées.

Les kystes ont été décrits.

Les zygospores ont été observées et décrites. Elles ont de $0^{\text{mm}},1$ à $0^{\text{mm}},2$ de

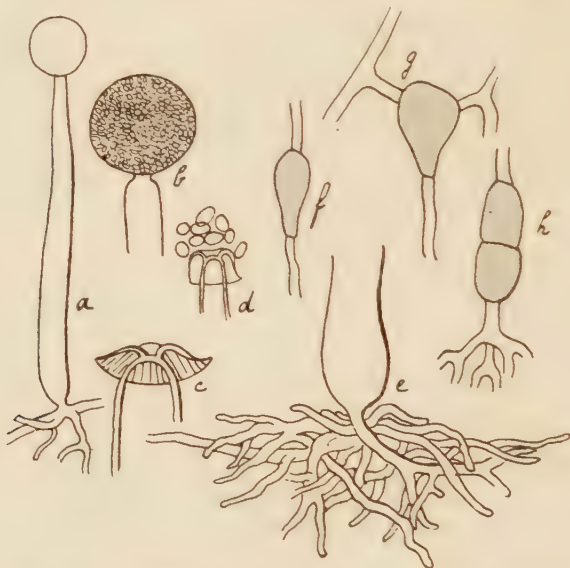


Fig. 18. — *Mortierella Rostafinskii* (O. Brefeld). — a, Tube sporangifère, gr. 100; b, Sporange, gr. 400; c, d, Extrémités du sporange mûr avec collerette rabattue, gr. 305; e, Base du tube sporangifère avec rhizoïdes, gr. 100; f, g, h, Chlamydo-spores ou kystes, gr. 300. (D'après O. Brefeld. Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, IV Heft, 1884.)

diamètre environ, la membrane est lisse; elles contiennent beaucoup de globules graisseux. Lorsque la zygospore est entourée de sa capsule (carpospore) elle peut atteindre 1 millimètre et plus.

HABITAT : *Fumier de cheval* (fig. 18).

***Mortierella arachnoides* et *M. ficariae* (Therry et Thierry).**

Ces deux champignons ont été découverts sous forme de filaments mycéliens qui envahissaient les bâches à bouture des jardiniers fleuristes de la région lyonnaise et compromettaient singulièrement cette opération essentielle de l'industrie horticole. Les auteurs en ont découvert les fructifications et ont cru pouvoir ajouter avec certitude deux espèces nouvelles au genre *Mortierella*.

Voici comment ils donnent la diagnose de ces nouvelles espèces.

Mortierella arachnoides Th. et Th. (Araignée des serres).

Mycélium : filaments régulièrement cylindriques, aériens, rampants, aranéeux, blanc brillant dans la jeunesse, brun terne ou orangé (Sienne brûlée) dans la vieillesse, irrégulièrement rameux (dichotomie non en diapason) septés, anastomosés, persistants, robustes, à végétation indéfinie, entremêlés, non feutrés. — Chlamydospores et stylospores inconnues ; tubes sporangifères cylindriques monosporangiens ? Quoique ayant suivi pendant toute une année la végétation de cette plante, nous ne pouvons caractériser avec certitude que son système végétatif, nos recherches ne nous ayant fourni qu'un seul sporange sur un tube brisé, ce qui n'est pas suffisant ; car ce sporange pouvait tout aussi bien appartenir à une tout autre espèce qu'à celle-ci.

Habite dans les serres chaudes ; sur toute espèce de boutures. Végète aussi bien sur la terre et sur le sable mouillé.

Mortierella ficariæ Th. et Th.

Mycélium aérien rampant, aranéeux, laineux, blanc terne, blanc ou blanc argenté, à végétation indéfinie, filaments entremêlés, non feutrés, irrégulière-

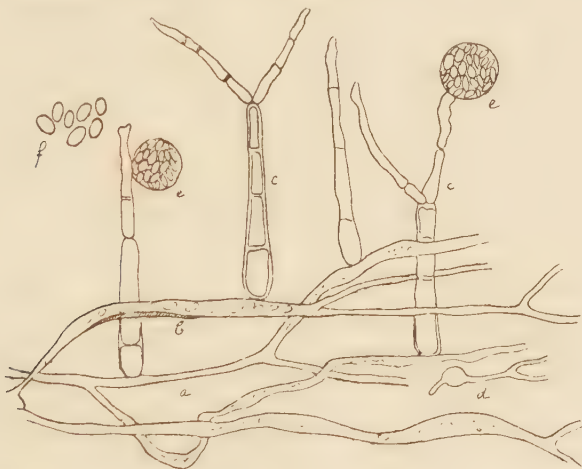


Fig. 49. — *Mortierella ficariæ* (Therry et Thierry). — a, Filaments mycéliens, cylindriques bosselés, ramifiés (dichotomie en diapason) ; b, Filament enflé, chlamydosporien et accumulation de mucus ; c, Tubes sporangifères simples et bifurqués ; d, Chlamydospore mycélienne germant ; e, Deux sporanges ; f, Spores, gr. 660. (D'après Therry et Thierry, Revue mycologique, 1882.)

ment rameux, *dichotomes en diapason*, septés et anastomosés, ondulés, tortueux, bosselés ou cylindriques, en ce cas, minces, puis dilatés pour se rétrécir à nouveau : différence due à l'abondance ou accumulation du protoplasma, ou à des chlamydospores mycéliennes. Chlamydospores aériennes et stylospores inconnues. Tubes sporangifères dressés, insérés sur les filaments mycéliens en *faux parasitisme*, simples ou divisés en deux branches généralement assises sur la quatrième cellule, régulièrement amincis de la base au sommet, de 3 à 7 fois septés. Cellule primaire plus courte, comme enflée, à paroi

plus robuste et surtout plus colorée. La cellule terminale porte de deux à cinq bourgeons ou *bosses*, irrégulièrement espacés et disposés, portant autant de sporanges. Sporangies sphériques, à membrane très diffuente et fugace,

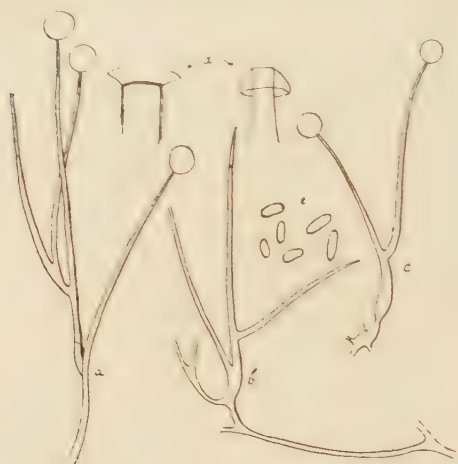


Fig. 20. — *Mortierella Bainieri* (Costantin). — *a*, *b*, *c*, Port général de la plante. Tubes sporangitères de 2 à 3 millimètres de hauteur; sporanges; *d*, Extrémités de sporanges avec collerette rabattue; *e*, Spores de 6-9 μ sur 4-5 μ . (D'après Costantin, Bull. Soc. mycol. de France, 1888.)

contenant un grand nombre de spores ovales elliptiques; nichées dans un mucus de la nuance des filaments; spores légèrement lavées de jaune sur blanc bleuâtre.

Habite sur les feuilles vivantes du *Picaria ranunculoides* [Lyon, parc de la Tête d'Or (fig. 19)]. Thierry et Thierry [41].

***Mortierella Bainieri* (Costantin).**

Tubes sporangifères ramifiés; rameaux plus longs que le pied principal, quelquefois égaux; hauteur 2 à 3 millimètres; renflés vers la base, atténués au sommet.

Spores irrégulières ovales, de 6 à 9 μ de longueur sur 4 à 5 μ de large.

Chlamydospores et stylospores non étudiées.

Diffère de *Mortierella canadelabrum* par ses spores qui sont rondes avec une partie nucléoïde au milieu.

HABITAT : Sur *Tremellodon gelatinosum* (fig. 20). Costantin [43].

***Mortierella Bainieri* Cost., var. nov. *Jenkini* (A. L. Smith).**

Sporangiophores ayant 1 millimètre de haut, ramifiés en sympode, effilés de 10 μ de large vers la base, à 5 μ en bas du sporange, non resserré et sans collier basal. Sporangies sphériques d'environ 25 μ de diamètre; spores nombreuses, extrêmement petites, elliptiques, incolores, de 2 à 3 μ .

HABITAT : Terre humide (fig. 21). A. L. Smith [44].



Fig. 21. — *Mortierella Bainieri* (Cost., var. nov. *Jenkini*). (D'après A.-L. Smith, Journal of botany, vol. XXVI.)

***Mortierella capitata* (E. Marchal).**

Mycélium rampant, irrégulièrement ramifié, flexueux, blanc dès le début; hyphes fructifères munis à la base d'appendices mycéliens épais, dressés, parfois courbés à la base, continus, 350-500 μ de long, ne dépassant pas dans la partie médiane 18 à 23 μ d'épaisseur, simples (très rarement 1-2 rameaux courts, non renflés à la base), cylindriques, renflés sensiblement à la base, terminés au sommet par une partie ovoïde de 13-18 μ de diamètre, avec ramifications simples plus rarement bifurques irrégulièrement, cylindriques, grêles, droits ou légèrement incurvés à la base, portant à leur sommet des sporanges

de 8-14 et de 2,5-4 μ . Sporangies nombreux, oligosporés, hyalins, pédicellés, réunis en un grand capitule, de 37-92 μ de diamètre; spores toujours arrondies, petites, à peine réunies par une substance gélatineuse, présentant un gros noyau, de 8,5 à 10 μ de diamètre, hyalines (*sans figures dans le texte original*).

HABITAT : *Parasite sur le stroma filamenteux de Xylaria Tulasnei, et trouvé sur le fumier de lièvre*. E. Marchal [48].

Mortierella apiculata (E. Marchal).

Mycélium grêle, continu, blanc, ramifié en dichotomie; hyphes sporangifères non rassemblés, continus, dressés, blanc jaunâtre, se colorant en violet par l'iode, renflés à la base, très souvent incurvés, légèrement amincis au sommet, rameaux de 500-600 μ et de 15-18 μ . Rameaux ascendants ou étalés, terminés par un sporangie globuleux de 40-50 μ de diamètre. Spores elliptiques, réunies par une substance gélatineuse, courbées asymétriquement, de part et d'autre, pourvues d'apicules courts et hyalins (apicules linéaires caducs), finement granuleuses à l'intérieur, hyalines, de 12-15 μ ; 5-5 et 6-6,5 μ (*sans figures dans le texte original*).

HABITAT : *Sur des excréments d'oie*. E. Marchal [48].

Mortierella repens (A. L. Smith).

Mycélium rampant, étendu largement, sporangiophores s'élevant du mycélium, sans branches, délicats, légèrement effilés, très variables en longueur; sporanges globuleux, variables de dimensions, d'environ 20 μ de diamètre, sans collier basal. Spores



Fig. 22. — *Mortierella repens*. (D'après A. L. Smith, Journal of Botany, vol. XXXVI, 1897.)

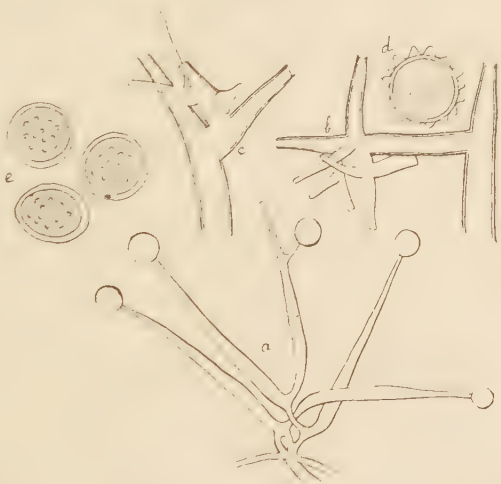


Fig. 23. — *Mortierella Van Tieghemi*. — a, Groupe de tubes sporangifères, gr. 100; b, c, Extrémités ramifiées de tubes sporangifères, gr. 660; d, Stylospore, gr. 660; e, sporangiospores, gr. 660. (D'après H. Bachmann, Jahrb. für wiss. Bot., 1900.)

peu nombreuses, cinq au plus, globuleuses, de 11 μ de diamètre.

HABITAT : *Terre humide*. Newport. Monmouth, janvier 1897 (fig. 22).

Mortierella Van Tieghemi (Hans Bachmann).

Les tubes sporangifères en touffe naissent de 2 à 30 sur une branche aérienne du mycélium aérien. Ils ont de 250 à 400 μ de hauteur; renflés à la base, (environ 17 μ), ils se rétrécissent peu à peu de façon à présenter à l'extrémité

un diamètre de 3,5 μ . Lorsqu'ils sont vieux, ils ont un grand nombre de cloisons transversales.

Vers le haut, des ramifications latérales, au nombre de 2 à 15, ayant une longueur maxima de 68 μ . Chaque branche peut en porter d'autres. Ramifications droites et sympodiales.

Les sporanges ont de 32 à 70 μ de diamètre, une membrane légèrement diffluente. La cloison de séparation est tantôt plane, tantôt légèrement voûtée. Ils renferment jusqu'à 50 spores, rondes, ovales ou irrégulières, de 6 à 20 μ de diamètre, incolores, lisses.

Rarement des kystes sur les filaments.

Stylospores arrondies, échinulées de 20 à 25 μ de diamètre.

HABITAT : *Fumier de cheval* (fig. 23).

Mortierella humicola (Oudemans).

Mycélium formant gazon orbiculaire, non lamelleux, toujours blanc. Filaments rampants, ramifiés dichotomiquement, hyalins, continus, renflés çà et là, à protoplasma peu granuleux.

Tubes sporangifères dressés, parfaitement cylindriques, ni renflés à la base.



Fig. 24. — *Mortierella humicola*. — Sporangies, gr. 250 ; Spores, gr. 300. (D'après Oudemans et Koning, Arch. néerlandaises des Sc. exactes et naturelles, 2^e série, 7, 1902.)

ni atténués à la partie terminale, à protoplasma rempli de grosses vacuoles, de 110 à 150 μ de hauteur, terminés par un sporange unique.

Sporanges globuleux de 20 μ de diamètre environ, à membrane hyaline très mince. Spores arrondies, très transparentes, de 3 μ de diamètre, hyalines ; absence de tout vestige de noyau ou de gouttelettes.

Les chlamydo-spores et les stylospores ne sont pas signalées par l'auteur qui se borne à cette brève description, comme du reste pour les trois espèces nouvelles signalées par lui.

HABITAT : *Produit d'une culture sur gélatine préparée, de terre humeuse pulvérisée, originaire du bois dit « Spanderswood » près de Bussum* (fig. 24).

Mortierella isabellina (Oud.).

Gazon mycélien zoné, d'abord blanc, mais bientôt gris dilué et enfin isabelle (d'où son nom), et plus dur au toucher.

Hyphes rampants, ramifiés dichotomiquement, continus, à protoplasma égal :

cylindres dressés, à peine plus réduits en haut, continus, de 120 à 200 μ de hauteur, hyalins, aboutissant à un sporange unique.

Sporanges arrondis de 12 à 25 μ de diamètre, transparents, à membrane hyaline. Spores arrondies, très réfringentes; séparément peu hyalines, présentant des leucytes colorés, 2 à 5 μ de diamètre. Chlamydospores sphériques ou

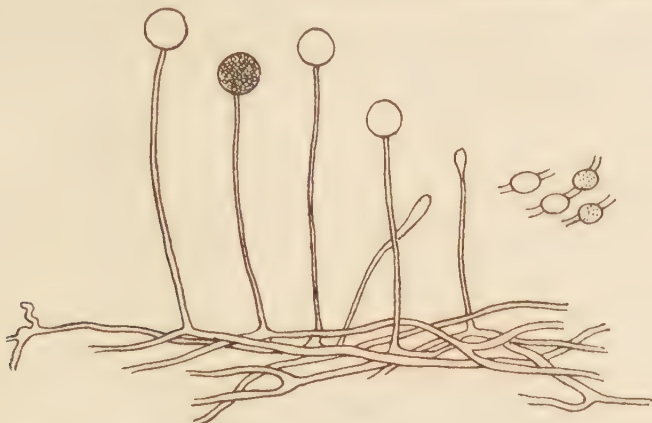


Fig. 25. — *Mortierella isabellina* (Oudemans et Koning, *loc. cit.*).

elliptiques, enfoncées dans la gélatine, transparentes, hyalines, à membrane très mince.

L'auteur différencie cette espèce du *M. simplex* par la couleur du mycélium et la dimension plus faible des spores (2 à 5 μ contre 10 μ) et les spores sans noyau.

HABITAT : Même origine que *M. humicola* (fig. 25).

***M. pusilla* (Oud.).**

Filaments arrondis, constamment blancs, laineux, se superposant très peu, en forme de lames, étalés ou agglomérés.

Hyphes rampants, hyalins (de 2,5 à 10 μ d'épaisseur), ramifiés dichotomiquement, remplis d'un protoplasma dense finement granuleux; filaments dressés de 4-6 μ d'épaisseur; un peu plus épais à la base, puis rétrécis dans la partie terminale; 130-170 μ de hauteur, terminés par un seul sporange. Sporanges arrondis, très transparents, de 24 à 28 μ de diamètre, à membrane hyaline. Spores parfaitement sphériques, très transparentes, hyalines, 2 à 2,5 μ de diamètre; pas de trace de noyau ou de vésicule.

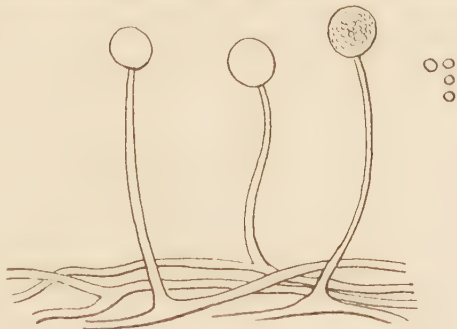


Fig. 26. — *Mortierella pusilla*. — Sporanges, gr. 250; Spores, gr. 500. (D'après Oudemans et Koning, *loc. cit.*)

Diffère du précédent par les filaments de nature lamelleuse et la couleur constamment blanche; les hyphes rampants à protoplasma dense et granuleux;

hyphes dressés atténués en haut, un peu renflés à la base ; spores hyalines. Diffère de *M. simplex* par les spores beaucoup plus petites (fig. 26).

HABITAT : *Le même que le précédent.*

***M. subtilissima* (Oud.).**

Filaments semblables à ceux de *M. pusilla*. Hyphes rampants, hyalins, continus, ramifiés; $3\text{--}5\ \mu$ d'épaisseur, à protoplasma homogène; filaments dressés, minces, continus, hyalins, $130\text{--}200\ \mu$ de hauteur; $2\frac{1}{3}$ à $3,5\ \mu$ d'épaisseur, simples, cylindriques, non renflés à la base, à peine atténués en haut, terminés



Fig. 27. — *Mortierella subtilissima*. — Tubes sporangifères, gr. 250; Sporangies, gr. 500; Spores, gr. 500. (D'après Oudemans et Koning, *loc. cit.*)

par un seul sporange. Sporangies arrondis, transparents, $20\text{--}26\ \mu$ de diamètre, à membrane hyaline. Spores transparentes, hyalines, arrondies ($2\frac{1}{3}$ à $4\frac{2}{3}\ \mu$ de diamètre) mélangées de spores ovales ($4\text{--}5$ et $5\text{--}6\ \mu$).

Diffère de *M. pusilla* par le protoplasma homogène non granuleux des hyphes rampants ; les filaments dressés de $2\frac{1}{3}$ à $3\frac{1}{2}$ contre $5\ \mu$; presque également épais sur toute la longueur, sporangies plus petits ($20\text{--}26$ contre $24\text{--}28\ \mu$), spores arrondies plus petites mélangées avec d'autres elliptiques plus grandes, presque toutes égales.

HABITAT : *Le même que le précédent* (fig. 27).

Mortierella Van Tieghemi, var. *cannabis*.

Cette Mucorinée nouvelle m'a été fournie par M. Matruchot qui l'avait trouvée sur des graines de chanvre, en 1898.

Dans cette variété, non décrite jusqu'à présent, les tubes sporangifères sont un peu plus petits que dans l'espèce décrite en 1900 par Bachmann (200 à $250\ \mu$) ; ils sont ramifiés vers la partie terminale comme dans l'espèce type et chaque ramification nouvelle est légèrement étranglée à la base, puis renflée et continuée par une partie cylindrique plus étroite ; les rameaux sont plus courts que dans le type précédent ($20\text{--}25\ \mu$) ; les spores arrondies ou légèrement ovales ont de 7 à $8\ \mu$ de diamètre ; les stylospores fortement échinulées ont un diamètre plus petit (15 à $20\ \mu$) et elles sont souvent réunies en grappes à l'extrémité d'un même filament.

Je la désigne sous le nom de *Mortierella Van Tieghemi* var. *cannabis*.

HABITAT : *Graines de chanvre.*

Mortierella canina n. sp. (J. Dauphin).

Je donne ici la caractéristique d'une nouvelle espèce de *Mortierella*, rencontrée dans une culture mélangée à un *Mucor* ; elle présentait de nombreux sporanges ; cultivée sur tranches de pomme de terre, elle n'a donné que des chlamydospores échinulées.

Le mycélium est un mycélium de *Mortierella* à protoplasma hyalin, finement granuleux, ramifié en dichotomie : la ramification en diapason est typique.

Les tubes sporangifères naissent par touffes au nombre de 4 ou 5,

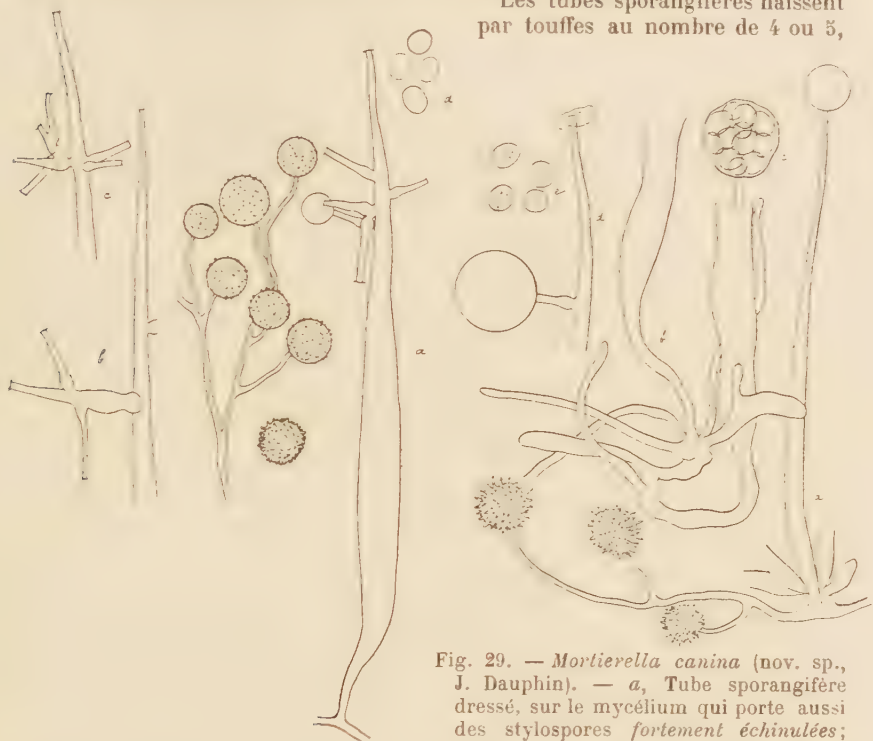


Fig. 28. — *Mortierella Van Tieghemi* (var. *cannabis*, J. Dauphin). — a, b, c, Tubes sporangifères, gr. 360 ; d, Sporangiospores, gr. 360 ; e, Mycélium et stylospores, gr. 360 (1).

Fig. 29. — *Mortierella canina* (nov. sp., J. Dauphin). — a, Tube sporangifère dressé, sur le mycélium qui porte aussi des stylospores fortement échinulées ; b, Mycélium avec plusieurs tubes sporangifères à divers états de développement ; c, Sporange ; d, Extrémité d'un tube sporangifère présentant par exception, une ramification ; e, Sporangiospores (toutes les figures, gr. 360, J. Dauphin).

quelquefois davantage, sur un filament mycélien ; ils sont un peu renflés à la base ; quelquefois, ils débutent par un stolon qui se dresse et qui est à peine plus large que le filament mycélien d'où il provient ; le renflement se produit alors un peu plus haut ; le tube sporangifère a une longueur d'environ 350 à 400 μ ; dans sa partie la plus large, il présente un diamètre de 14-16 μ ; il diminue ensuite insensiblement de diamètre jusqu'à l'extrémité qui porte le sporange, où il présente un diamètre de 1,5 à 2 μ au plus. Il se termine par un sporange à membrane hyaline, presque complètement diffluente, sauf

(1) Cette figure et toutes celles qui vont suivre ont été dessinées à la chambre claire.

à la base où elle est un peu plus épaisse et rabattue en petite collerette à la déhiscence. La membrane de séparation est plane ou légèrement bombée lorsque le sporange est mûr. Le sporange (de 30 μ environ), contient de 10 à 15 spores hyalines, sphériques, irrégulières, de 8 à 9 μ de diamètre.

Le tube sporangifère est généralement simple, rarement ramifié; mais alors une petite branche naît vers l'extrémité de la branche principale et se termine de la même façon par un sporange globuleux de même diamètre ou un peu plus petit que le sporange terminal; la ramification, lorsqu'elle se produit, est légèrement étranglée à la base et en ce point la membrane du filament sporangifère paraît un peu épaisse. Le tube ne présente pas de rhizoïdes à sa base.

Les stylospores sont arrondies, mais légèrement aplaties; elles sont discoïdes avec un diamètre de 15 à 16 μ ; les unes échinulées comme dans le *M. polycephala*, les autres avec de fortes échinules qui lui donnent l'aspect d'une petite noix de galle; elles sont tantôt à l'extrémité des filaments mycéliens, tantôt sur des ramifications de longueur variable de ce même filament.

Je considère cette espèce, comme une espèce de passage entre *M. simplex* et *M. polycephala*.

HABITAT : Trouvé sur du fumier de chien, mélangé à des mucors.

Mortierella raphani n. sp. (J. Dauphin).

Dans cette nouvelle espèce, les tubes sporangifères naissent tantôt isolés,

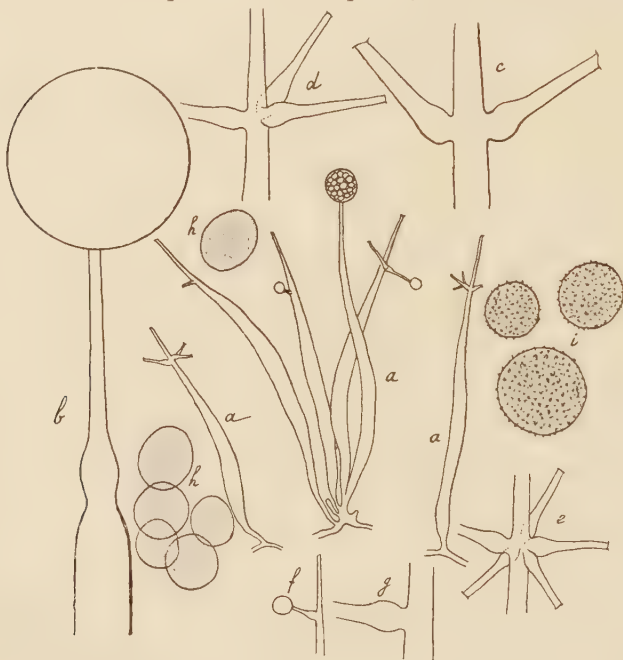


Fig. 30. — *Mortierella raphani* (n. sp. J. Dauphin). — a, Groupe de tubes sporangifères et sporanges isolés, gr. 114; b, Extrémité de tube sporangifère avec deux renflements opposés, débuts de ramification, gr. 680; c, d, e, Tubes sporangifères ramifiés (ramification en verticille), gr. 680; f, Une ramification isolée, gr. 114; g, La même plus grossie, gr. 680; h, Sporangiospores, gr. 680; i, Stylospores, gr. 680.

tantôt par groupe de cinq ou six en un même point d'un filament. Ils sont légèrement amincis à la base (1 μ) sur une petite longueur, puis se renflent

sur une grande partie de leur hauteur et leur diamètre atteint alors 40 à 12 μ . Ils se réduisent graduellement vers le haut. Ils ont une hauteur de 350 à 400 μ . Le sporange qui les termine, de 35 à 40 μ de diamètre, contient une vingtaine de spores arrondies ou légèrement ovoïdes, de 8 à 12 μ de diamètre.

Le tube sporangifère est quelquefois simple, mais le plus souvent ramifié ; les ramifications naissent à une petite distance du sommet, soit isolément, soit le plus souvent par deux, trois, quatre ou plusieurs branches secondaires disposées *en verticille*. Chacune de ces branches présente un léger renflement basilaire. Parfois elles présentent des ramifications de second ordre.

Les stylospores peu échinulées ont un diamètre variable de 10 à 20 μ .

D'après l'énumération qui précède, le groupe des Mortiérèllées comprendrait donc en tout trente et une espèces ou variétés actuellement décrites ; mais nous allons voir que ce nombre doit être considérablement réduit, si l'on s'en tient aux caractères vraiment spécifiques, et si l'on fait entrer en ligne de compte les conditions dans lesquelles se développent les champignons et aussi les circonstances qui peuvent les modifier dans leur aspect et leurs dimensions.

La définition de l'espèce, dans ce groupe comme dans beaucoup d'autres, est assez difficile à donner d'une façon précise ; en tout cas elle peut prêter à discussion. Mais il me semble qu'on pourrait adopter ici, comme on l'a déjà fait dans d'autres groupes, la notion de « grande espèce » et de « petite espèce ».

Sera considérée comme grande espèce, le type décrit par l'auteur qui pour la première fois l'aura étudié et en aura indiqué les caractères vraiment spécifiques : par exemple, *Mortierella simplex*, de Van Tieghem, sera une grande espèce de *Mortierella*. Une petite espèce se distinguera de l'espèce type, de la grande espèce, par deux ou plusieurs caractères de moindre importance, mais qui se maintiendront constants : l'espèce nouvellement citée, *Mortierella canina*, sera une petite espèce venant se placer à côté de *M. simplex*, grande espèce, à cause de son tube sporangifère simple, mais très atténué vers le haut, et de ses stylospores fortement échinulées.

Une variété sera déterminée par *un seul* caractère différent de celui de la grande espèce : par exemple, *Mortierella cannabis* sera une variété de *Mortierella Van Tieghemi*, n'en différant guère que par le renflement basal que présentent les ramifications du tube sporangifère.

On pourra donc caractériser le genre *Mortierella* :

1° Par la nature de ses filaments mycéliens non cloisonnés, au moins quand ils sont jeunes ; la ramification en diapason de ces mêmes filaments ; les anastomoses que ces derniers présentent souvent ;

2° Par le tube sporangifère sans columelle et la membrane diffluyente du sporange, membrane dont il reste seulement la partie basale plus ou moins persistante au moment de la déchissance ;

3° La présence de stylospores plus ou moins fortement échinulées.

Les caractères qui permettront de grouper les différentes espèces de *Mortierella* devront être pris dans le mode de ramification du tube sporangifère ; et je crois que la classification de M. Van Tieghem, basée sur ce caractère, peut encore être adoptée aujourd'hui ; quoiqu'elle date de 1875, elle est la seule, en tout cas, qui ne puisse se contester — et comme cet auteur rangeait autrefois les neuf espèces, connues en 1875, en quatre grands groupes principaux, on pourra encore aujourd'hui considérer :

1° Les espèces où le filament sporangifère est simple ;

2° Les espèces où le filament sporangifère sera ramifié en grappe régressive plus ou moins nettement verticillée ;

3° Les espèces où le filament sera ramifié en cyme bipare, unipare ou hélicoïde ;

4° Les espèces où le filament sera ramifié à la fois en grappe régressive et en cyme unipare hélicoïde.

Dans ces quatre grands groupes, on placera toutes les espèces actuellement connues, en tenant compte de tous les caractères qui permettront de distinguer les grandes espèces, les petites espèces et les variétés.

En dehors du caractère tiré de la ramification du tube sporangifère, je ne pense pas qu'il faille attribuer une importance spécifique à la grosseur du tube sporangifère, au diamètre des spores, encore moins à la couleur des filaments mycéliens. Coëmans a soin de dire que « quant à la dimension des spores, elle est trop variable pour qu'on puisse s'en servir comme caractère », et M. Van Tieghem, dans les descriptions

qu'il donne des différentes espèces, se garde bien, tout en donnant les dimensions moyennes des spores, de s'en servir comme d'un caractère spécifique. Les spores sont trop variables dans un même type pour qu'on puisse considérer leur diamètre et leur forme comme caractéristiques d'espèces nouvelles. Je crois que beaucoup de caractères considérés comme spécifiques dépendent des conditions biologiques dans lesquelles le champignon s'est développé et qu'ils sont plutôt des caractères adaptatifs que des caractères héréditaires. Quant à la couleur du mycélium, elle peut varier du blanc neigeux au brun plus ou moins foncé, selon l'âge du champignon. C'est un caractère à rejeter.

Il n'est pas douteux pour moi que le *Mortierella Bainieri*, décrit en 1888 par M. Costantin, ne soit au fond qu'une variété de *Mortierella candelabrum* (Van Tieghem), parce que le seul caractère qui les différencie, d'après M. Costantin lui-même, est tiré « des spores qui sont rondes avec une partie nucléoïde au milieu ». Une autre variété a été décrite par M. Bainier qui n'a pas créé une espèce nouvelle.

Pour les mêmes raisons, *Mortierella simplex* devrait comprendre certainement comme petite espèce, ou peut-être comme simple variété, le *Mortierella fusispora*, malgré la présence de spores en fuseau, parce que c'est là, avec la dimension du tube sporangifère, le seul caractère qui différencie nettement ces deux espèces.

Tous les *Mortierella* décrits par Oudemans sont pour moi une seule et même forme que l'on doit considérer comme variété de *Mortierella simplex*.

De même *Mortierella Rostafinskii* n'est qu'une variété ou tout au plus une « petite espèce » de *Mortierella strangulata*.

Je crois qu'il serait logique de considérer au point de vue de la classification des Mortiérellées :

1° Les grandes espèces comme *Mortierella simplex*; *Mortierella polycephala*; *Mortierella candelabrum*; *Mortierella biramosa*, etc.;

2° Les petites espèces ;

3° Les variétés.

Si le groupe des Mortiérellées perdait ainsi un certain

nombre d'espèces plus ou moins nettement caractérisées, il aurait au moins l'avantage d'être plus homogène et je crois que la systématique du groupe y gagnerait en simplicité.

Du reste, en parlant ainsi, je ne fais que suivre l'exemple donné par des savants bien connus. M. Bainier décrivant, dans ses observations sur les Mucorinées, un *Mortierella candelabrum* qui n'était pas identique à celui de M. Van Tieghem, se garde bien de créer une espèce nouvelle parce que les spores du type qu'il examine sont ovales au lieu d'être rondes. — M. Matruchot, étudiant la structure du protoplasma chez un *Mortierella reticulata* remarque que l'appareil sporangifère est plus grand que celui du type décrit par MM. Van Tieghem et Le Monnier; les branches sporangifères latérales, nombreuses, sont souvent ramifiées, etc., etc.; « mais toutes ces différences sont insuffisantes pour constituer un type spécifique distinct » et l'auteur considère la forme observée comme une simple variété de *M. reticulata*.

J'ai moi-même observé que, dans certaines conditions, le *Mortierella polycephala* peut donner des branches latérales ramifiées que ni Coëmans, ni M. Van Tieghem n'ont jamais signalées; ce n'est pas là un caractère spécifique. Je pourrais en dire tout autant pour la variété nouvelle *M. canina* que je décris et que je considère comme un terme de passage entre *M. simplex* et *M. polycephala*.

Je proposerai donc pour la famille des Mortiérellées la classification suivante, que je crois suffisamment justifiée; les caractères tirés de la grosseur des tubes sporangifères, des sporanges ou des spores étant tout à fait secondaires et propres tout au plus à établir des différences parmi les variétés qu'on pourra découvrir, ou parmi les anciennes espèces que je considère comme des variétés créées par l'adaptation à des conditions de vie biologique que nous connaissons mal. (Voir tableau ci-contre) (1).

(1) Dans ce tableau, j'ai groupé les formes connues de *Mortierella* d'après les caractères tirés de la ramification du tube sporangifère. J'ai rangé dans trois colonnes différentes celles que je considère comme appartenant à l'une ou l'autre des catégories : 1° grandes espèces; 2° petites espèces; 3° variétés.

Genre *Mortierella*.

MODE DE RAMIFICATION du tube sporangifère.	GRANDES ESPÈCES	PETITES ESPÈCES	VARIÉTÉS
I. — Tube sporangifère simple.	Mortierella simplex.	<i>M. fusispora.</i> <i>M. apiculata.</i> <i>M. canina.</i>	<i>M. isabellina.</i> <i>M. humicola.</i> <i>M. pusilla.</i> <i>M. subtilissima.</i> <i>M. repens.</i>
II. — Tube sporangifère ramifié en grappe régressive plus ou moins verticillée.....	<i>M. strangulata.</i> <i>M. tuberosa.</i> <i>M. pilulifera.</i> <i>M. polycephala.</i> M. reticulata.	<i>M. Rostafinskii.</i> <i>M. Van Tieghemi.</i> <i>M. capitata.</i> <i>M. crystallina.</i> <i>M. echinulata.</i> <i>M. raphani.</i>	<i>M. Van Tieghemi,</i> <i>var. cannabis.</i> <i>M. reticulata, var.</i> <i>(Matruchoi).</i>
III. — Tube sporangifère ramifié en cyme bipare ou unipare hélicoïde.	M. candelabrum.	<i>M. Bainieri.</i> <i>M. minutissima.</i> <i>M. nigrescens.</i>	<i>M. Bainieri, var.</i> <i>Jenkini.</i>
IV. — Tube sporangifère ramifié en grappe régressive et en cyme unipare hélicoïde....	M. biramosa.		
ESPÈCES DOUTEUSES <i>M. diffluens.</i> — <i>M. ficariæ.</i> — <i>M. arachnoides.</i>			

Dans le tableau qui suit, je dresse la liste de toutes les espèces de *Mortierella* décrites jusqu'à ce jour, en donnant, à côté du nom spécifique, le nom de l'auteur qui l'a découverte, la date de la publication, et en suivant l'ordre chronologique qui est d'ailleurs celui que j'ai suivi dans la description des divers types. Dans les autres colonnes j'indique par les mots mycélium, stylospores, chlamydospores, sporanges et zygospores, que ces différents organes ont été étudiés par les auteurs ou qu'ils les ont signalés dans leurs descriptions. En comparant les différentes lignes de ce tableau, on peut d'un coup d'œil se rendre compte que beaucoup d'espèces ont été incomplètement suivies dans leur développement. Le mycélium et les stylospores ont été souvent ignorés ; les sporanges seuls ont été vus partout ; il est vrai que ce sont les organes les plus faciles à observer (1).

(1) Dans ce tableau, les tirets ont la valeur du mot placé au-dessus dans la même colonne et signifient que l'organe désigné a été étudié par l'auteur ; les guillemets indiquent que l'organe n'a pas été décrit.

Genre *Mortierella*.

Tableau des espèces actuellement connues, avec indication des organes végétatifs ou reproducteurs décrits par les auteurs qui les ont découvertes.

ESPÈCES	MYCÉLIUM — Hyphes. Thalle.	STYLOSPORES — Conidies.	CHLAMYDO- SPORES — Conidies mycéliennes. Kystes.	SPORANGES (Spores).	ZYGOSPORES — Œufs. Zygotes.
1. <i>Mortierella polycephala</i> . 1863. Coëmans. 1873. V. Tiegh. et Le M. 1903. J. Dauphin.	Mycélium.	Stylospores.	Chlamydo- spores.	Sporanges.	» Zygosporos.
2. <i>M. crystallina</i> 1871. Harz.	»	»	»	—	»
3. <i>M. echinulata</i> 1871. Harz.	»	»	»	—	»
4. <i>M. reticulata</i> 1873. V. Tiegh. et Le M.	Mycélium.	Stylospores.	Chlamydo- spores.	—	»
5. <i>M. candelabrum</i> 1873. V. Tiegh. et Le M.	—	»	—	—	»
6. <i>M. simplex</i> 1873. V. Tiegh. et Le M.	—	Stylospores.	—	—	»
7. <i>M. diffuens</i> 1874. Sorokine.	»	»	»	—	»
8. <i>M. pilulifera</i> 1875. V. Tieghem.	Mycélium.	Stylospores.	»	—	»
9. <i>M. tuberosa</i> 1875. Van Tieghem.	—	—	Chlamydo- spores.	—	»
10. <i>M. strangulata</i> 1875. Van Tieghem.	—	—	»	—	»
11. <i>M. biramosa</i> 1875. Van Tieghem.	—	—	»	—	»
12. <i>M. nigrescens</i> 1876. Van Tieghem.	—	»	»	—	Zygosporos.
13. <i>M. fuispora</i> 1876. Van Tieghem.	—	Stylospores.	»	—	»
14. <i>M. minutissima</i> 1876. Van Tieghem.	—	»	»	—	»
15. <i>M. Rostafinskii</i> 1878. Brefeld.	—	»	Chlamydo- spores.	—	Zygosporos.
16. <i>M. Ficarie</i> 1882. Therry et Thierry.	»	»	»	— ?	»
17. <i>M. arachnoides</i> 1885. Therry et Thierry.	»	»	»	— ?	»
18. <i>M. Bainieri</i> 1888. Costantin.	Mycélium.	»	»	—	»
19. <i>M. capitata</i> 1891. Marchal.	—	»	»	—	»
20. <i>M. apiculata</i> 1891. Marchal.	—	»	»	—	»
21. <i>M. repens</i> . 1897. A. L. Smith.	—	»	»	—	»
22. <i>M. Van Tieghemi</i> 1900. Bachmann.	Mycélium.	Stylospores.	Chlamydo- spores.	—	»
23. <i>M. isabellina</i> 1902. Oudem. et Kon.	—	»	»	—	»
24. <i>M. humicola</i> 1902. Oudem. et Kon.	—	»	»	—	»
25. <i>M. pusilla</i> 1902. Oudem. et Kon.	—	»	»	—	»
26. <i>M. subtilissima</i> 1902. Oudem. et Kon.	—	»	»	—	»
27. <i>M. Van Tieghemi</i> var. <i>cannabis</i> . 1908. J. D.	—	Stylospores.	»	—	»
28. <i>M. canina</i> 1908. J. D.	—	—	»	—	»
29. <i>M. raphani</i> 1908. J. D.	—	—	»	—	»

III

ÉTUDE BIOLOGIQUE DE MORTIERELLA POLYCEPHALA

1° DESCRIPTION DU MORTIERELLA POLYCEPHALA.

Coëmans, qui a créé le genre, a découvert *Mortierella polycephala* parasite sur les champignons supérieurs *Dædalea* et *Polyporus*. Je dois à l'obligeance de M. le professeur Matruchot, d'avoir pu étudier cette espèce sans être obligé de la rechercher moi-même et de l'isoler en vue des cultures pures. Je l'ai, du reste, trouvée un peu plus tard, en 1904, vivant non en parasite, mais en saprophyte sur du pain moisi, dans la Forêt-Noire.

Coëmans n'en a étudié ni le mycélium, ni les chlamydospores, quoiqu'il ait donné quelques détails sur l'organisation de ce champignon [1] : « Au microscope, dit-il, il se montre formé d'un système radicellaire peu remarquable, non cloisonné, de filaments mucoréens rampants, très longs et peu rameux, enfin de cellules fructifères dressées, très nombreuses, et disposées ordinairement sur des gonflements gibbeux de la tige. »

« Les cellules fructifères sont comparativement courtes ($1/4$ à $1/3$ de millimètre), renflées vers le milieu et effilées vers la pointe que termine un assez gros sporange. Sous celui-ci s'en trouvent d'autres (2-9) d'ordinaire plus petits, portés sur de courts pédicelles et disposés en faux verticilles, irrégulièrement espacés. — Les sporanges sont incolores, oligospores (4 à 20), dépourvus de sporophore intérieure et renferment des spores incolores, ovales ou arrondies dont le contenu est homogène ou présente parfois un nucléus central. Quant à la dimension des spores, elle est trop variable pour qu'on puisse s'en servir comme caractère ; elle est ordinairement proportionnée au volume du sporange et varie souvent dans un même réceptacle. »

M. Van Tieghem, dans son premier mémoire sur les Mucorinées, donne quelques détails sur le *Mortierella polycephala* et éclaire d'un nouveau jour la morphologie de l'espèce que j'ai étudiée moi-même en détail ; il en caractérise les chlamydospores aériennes, échinées et lisses, le mycélium aérien et aquatique ;

les tubes sporangifères et les sporanges; les figures qu'il en donne sont suffisamment explicites pour qu'à première vue, on puisse facilement reconnaître l'espèce étudiée (fig. 4).

C'est donc en me reportant à la description de Coëmans et à celle de MM. Van Tieghem et Le Monnier, que j'ai pu



Fig. 31. — *Mortierella polycephala*. — a, Groupe de tubes sporangifères; b, Pied isolé avec sporanges; c, Sporangiospores; d, Stylospores, gr. 150; e, Sporangiospore, gr. 875; f, Stylospores, gr. 875; g, h, Chlamydospores mycéliennes, gr. 875; j, Zygospore, gr. 45; k, Ramification en diapason, gr. 875; i, k, Filaments anastomoses; i, 875; k, 150.

déterminer l'espèce de *Mortierella* dont j'allais entreprendre l'étude (fig. 31).

J'ai observé heure par heure le développement du *Mortierella polycephala* sur milieu gélosé, en cellule de Van Tieghem; le fond de la cellule est rempli d'eau, de sorte que la germination peut avoir lieu. Elle se produit en général au bout de cinq à six heures pour la spore, de sept à huit heures pour la chlamydospore dont la membrane est plus épaisse; à ce moment, et sans qu'on observe que la spore ait gonflé, en un point quelconque apparaît un renflement qui bientôt s'étale et donne, de part et d'autre de la spore, un ou deux, quelquefois trois filaments sensiblement égaux qui vont s'allonger en se ramifiant à la surface du substratum; le développement est d'abord très

lent ; en vingt-quatre heures, les deux premiers filaments que j'observai avaient à peine l'un 15 μ , l'autre 9 μ . Peu à peu, les filaments, en se développant, se divisent par dichotomie, s'anastomosent, et, au bout de trois à quatre jours, recouvrent toute la surface du substratum. Ils commencent à s'étaler au delà et à se dresser dans l'air en même temps que les fructifications apparaissent. Il est à noter qu'au début, le mycélium, ainsi formé par la germination de la spore ou de la chlamydospore, est tout à fait superficiel : je n'ai jamais observé, dans les débuts de la vie du champignon, que les filaments poussent des prolongements à l'intérieur, de manière à former le mycélium aquatique dont parle M. Van Tieghem et que l'on remarque un peu plus tard, même lorsque le champignon pousse sur un milieu solide ou demi-solide comme la gélose ou la gélatine.

Le mycélium étant encore très jeune, et les fructifications peu abondantes, les filaments sont remplis d'un protoplasma parfaitement homogène et réfringent ; c'est alors que l'on peut bien observer la circulation protoplasmique déjà signalée par M. Van Tieghem dans son deuxième mémoire sur les *Mucorinées*. Dans le *Mortierella polycephala*, on observe nettement deux courants très réguliers qui vont en sens contraire, un courant central et un courant périphérique. Le premier est plus rapide que le second. Ils sont visibles à un fort grossissement, grâce à l'inégale réfringence du protoplasma qui en est le siège ; le protoplasma périphérique, étant plus condensé, est plus réfringent que le protoplasma central. A l'extrémité d'un tube mycélien, le courant semble se réfléchir dans tous les plans, continuer en sens inverse, et constituer alors le deuxième courant pariétal plus lent quoique tout aussi régulier. Quand le mycélium est plus âgé, le protoplasma devient réticulé, puis vacuolaire, des globules huileux apparaissent dans sa masse et la circulation protoplasmique est, sinon complètement supprimée, du moins très difficile à observer ; d'autant plus que souvent alors, des cloisons interviennent pour gêner ce mouvement.

Lorsque le mycélium est sectionné en un point quelconque, il se reforme très vite une cloison, et l'accroissement se fait de nouveau normalement. M. Van Tieghem a signalé cette faci-

lité des Mucorinées, de cicatriser rapidement toute blessure.

Comment et pourquoi le mycélium se ramifie-t-il ?

Il est un fait certain, c'est que l'allongement du filament mycélien est non pas terminal, mais subterminal. En arrière de l'extrémité du filament, la membrane est moins épaisse qu'au bout, et elle est très probablement, par cela même, plus élastique et plus apte à céder sous la poussée protoplasmique. Elle s'épaissit un peu plus tard, tandis que près de l'extrémité du filament elle reste toujours plus mince. Si, à un moment donné, la circulation est plus active, il se forme à cet endroit un petit bourgeon qui sera le commencement d'une nouvelle ramification.

Il serait intéressant de rechercher quelles sont les influences qui interviennent pour provoquer la poussée des deux bourgeons latéraux qui vont allonger le filament en dichotomie. En général, quand il va se produire une pareille division, les deux nouveaux bourgeons apparaissent dans un plan passant par l'axe du filament et parallèle à la surface du substratum. C'est ainsi que cela se passe dans une culture en cellule Van Tieghem, et il est possible que la lumière ait un rôle dans l'apparition de ces bourgeons qui doivent se former de cette manière quand le mycélium est aérien tout aussi bien que lorsqu'il est superficiel.

Lorsque la ramification se produit latéralement, elle est, comme dans le cas des ramifications dichotomes, annoncée par la réduction de l'épaisseur de la membrane du tube, qui pousse alors vers l'extérieur un bourgeon. Celui-ci va se développer comme les précédents. Le protoplasma, pour produire ces bourgeons, doit probablement sécréter une diastase capable de résorber en partie la membrane qui peut alors faire hernie au dehors.

Très souvent aussi, le contact du filament primitif avec un corps étranger plus dur que le filament lui-même, est une cause de ramification.

J'avais souvent été frappé de ce fait que, là où se trouvait une ramification, je voyais aussi fréquemment une parcelle de substance quelconque contre laquelle le filament venait s'aplatir et, à partir de là, bifurquait à droite et à gauche. Et, en effet, en semant plusieurs spores les unes à côté des autres, on peut

observer que chaque fois qu'un filament vient au contact de la spore voisine, il s'aplatit peu à peu et cesse de s'accroître, puis, sous la poussée de la turgescence, il se produit de chaque côté deux prolongements qui vont s'allonger à leur tour, puis se diviser de la même façon et probablement sous l'influence d'une même cause, si les filaments qui rencontrent l'obstacle n'arrivent pas à le franchir ou à passer par-dessous.

Formation des chlamydospores aériennes (Stylospores).

A partir du moment où tout le substratum est recouvert de cette toile de filaments mycéliens plus ou moins enchevêtrés et anastomosés, les fructifications aériennes apparaissent sous la forme de stylospores (fig. 32). En même temps, pour subvenir aux besoins de ces nouveaux organes, le mycélium pousse des prolongements vers l'intérieur du milieu nutritif et le mycélium aquatique va prendre naissance, produisant par places des kystes ou chlamydospores sessiles lisses.



Fig. 32. — *Stylospores*. — Divers modes d'insertion des stylospores, gr. 480.

Sur un filament mycélien, provenant de la germination d'une spore ou d'une chlamydospore observée en cellule de Van Tieghem, apparaît un renflement causé par l'afflux du protoplasma qui se condense en ce point. Ce renflement grandit et présente alors un léger étranglement qui le sépare nettement du filament mycélien ; il peut alors se présenter deux cas : ou bien le renflement va s'agrandir sans que le pédicelle s'allonge lui-même, ou bien le pédicelle va s'allonger plus ou moins en même temps que le renflement va s'exagérer. Il se formera alors, ou une chlamydospore presque sessile, ou une chlamydospore longuement pédicellée.

Quoi qu'il en soit, les transformations ultérieures seront sensiblement les mêmes. Le protoplasma s'accumule à l'intérieur du

renflement et garde tout d'abord son homogénéité, pendant que le renflement, en général sphérique, s'agrandit. Au moment d'atteindre sa dimension définitive, une cloison apparaît qui sépare l'extrémité du pédicelle de la stylospore, tandis que la membrane du filament mycélien repoussée par la pression interne se résorbe et est remplacée par une membrane plus épaisse formée en dessous, qui deviendra l'exospore. A ce moment, le protoplasma intérieur est absolument homogène et très réfringent; il possède un pouvoir dispersif considérable;

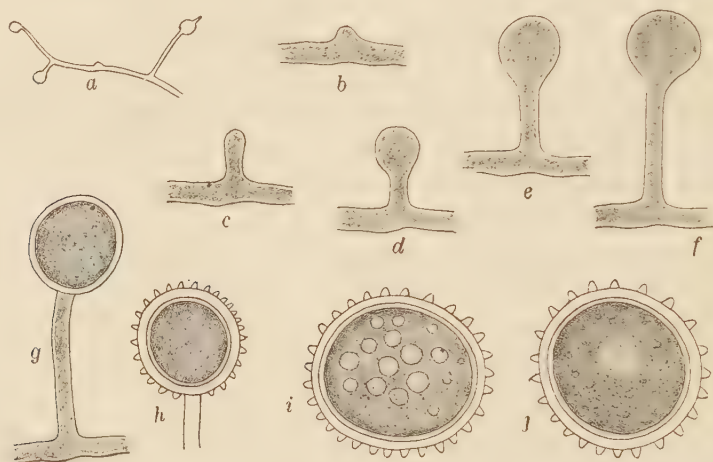


Fig. 33. — Développement d'une stylospore. — *a, b, c, d, e, f, g*, Différents états du développement de la stylospore, gr. 1000; *h, i, j*, Coupes à travers des stylospores fixées à l'alcool et montrant l'aspect différent du protoplasma plus ou moins remplies de gouttelettes huileuses, gr. 1300.

il m'est arrivé souvent dans d'autres circonstances, d'examiner ces spores à la lumière blanche du bec Auer et de constater que suivant l'incidence des rayons lumineux, le contenu protoplasmique de ces stylospores apparaît marqué des plus vives couleurs. Suivant la mise au point, on peut les voir colorées très nettement de rouge, de jaune, de bleu ou de violet. J'ai quelquefois observé le même phénomène dans les sporangiospores. Plus tard le protoplasma devient finement granuleux, et plus ou moins réticulé; une deuxième membrane (l'endospore) apparaît en dedans de la première, tandis que celle-ci se montre souvent hérissée de prolongements qui, à un fort grossissement, lui donnent assez l'aspect d'une roue dentée.

A l'intérieur des mailles de ce protoplasma réticulé apparaissent des gouttelettes huileuses dont le nombre va en augmentant, tandis que le protoplasma se rassemble sur le pourtour, laissant au centre une partie réfringente formée par de l'huile. En traitant par les réactifs colorants, on peut, quoique assez difficilement, constater la présence de quelques noyaux à la périphérie. L'hématoxyline, après fixation par l'alcool, m'a donné le meilleur résultat (fig. 33).

Je n'ai pas souvent observé la formation de chlamydospores aquatiques, car le mycélium s'étend très peu à l'intérieur du milieu nutritif quand celui-ci est constitué par un substratum solide, comme c'est le cas de la gélose.

Au bout de cinq à six jours, huit jours au plus, le mycélium est répandu sur toute la surface du milieu nutritif et dans l'air de la cellule Van Tieghem se dressent une multitude de chlamydospores aériennes, les unes (en très petit nombre), lisses, peu ou pas pédicellées, les autres très fortement échinulées.

Malgré tous mes efforts, je n'ai pu pousser plus loin l'étude de *Mortierella polycephala* en cellule de Van Tieghem ; j'ai essayé d'employer des milieux de culture solides ou liquides, gélose, gélatine, eau, jus de pruneaux, jus d'orange, etc., en choisissant naturellement des milieux assez transparents. Toutes mes tentatives sont restées infructueuses et j'ai dû, pour aller plus loin dans l'étude des formations fructifères, m'adresser aux cultures en grandes surfaces, soit dans des assiettes stérilisées, soit dans des tubes de Roux, soit dans des boîtes de Pétri, soit encore dans des ballons Pasteur.

En culture cellulaire je n'ai jamais obtenu que des chlamydospores simplement pédicellées. Dans des cultures en grande surface, dans des boîtes de Pétri, des ballons ou des tubes, j'ai rencontré, quoique plus rarement, des formes ramifiées comme celles que M. Van Tieghem a décrites. Du reste, dans les ramifications des organes reproducteurs, on peut rencontrer de très grandes variations. J'y reviendrai un peu plus loin.

Pour étudier les autres organes reproducteurs, j'ai donc fait de grandes cultures en surface, en employant comme substratum, du fumier de cheval stérilisé à l'autoclave à 120° et placé dans de larges assiettes qui, elles-mêmes, avaient été

flambées. L'ensemencement étant fait aseptiquement, j'obtenais au bout de trois ou quatre jours, une très belle poussée de mycélium qui bientôt se couvrait en même temps de sporanges et de chlamydospores. J'ai toujours observé dans ces conditions la prédominance des sporanges sur les chlamydospores ou les stylospores, ce qui laisserait supposer que, dans la vie ordinaire, sur un substratum naturel où la nourriture est abondante, ce ne sont pas nécessairement les chlamydospores qui se forment d'abord, les sporanges se produisant ensuite lorsque les conditions deviennent mauvaises. Les deux sortes d'organes peuvent apparaître simultanément.

M. Van Tieghem a très bien décrit la formation des sporanges et je ne peux mieux faire que de citer ici ce qu'il disait à ce sujet en 1875 dans son deuxième mémoire sur les Mucorinées : « Pour constituer un sporange, une branche issue d'une entre-fourche rampante, se dichotomise plusieurs fois de suite en des points très rapprochés; il se forme ainsi une sorte de rosette aplatie, dont les tubes rayonnants, courts et gros, accumulent une grande quantité de protoplasma sombre et finement granuleux. Cette provision faite, une ou plusieurs des branches de la rosette se dresse perpendiculairement au plan d'appui, se rentle beaucoup et s'allonge en s'amincissant en cône au sommet pour former le tube sporangifère. »

Dans le *Mortierella polycephala*, le protoplasma du tube sporangifère, homogène, est doué de mouvements très actifs, quand apparaît le rentlement terminal qui va constituer le sporange.

Lorsque se produit la cloison qui sépare le sporange du tube sporangifère, ce mouvement se ralentit de plus en plus et on aperçoit au milieu du protoplasma de nombreuses gouttelettes huileuses.

Souvent le tube sporangifère présente plusieurs ramifications secondaires en nombre variable, insérées en faux verticilles, terminées chacune par un rentlement qui deviendra lui-même un sporange. Chacune de ces ramifications peut, à son tour, en donner d'autres suivant les conditions. Leurs sporanges ne sont pas nécessairement consécutifs à la maturation du sporange terminal : celui-ci peut ne pas être encore arrivé à

maturité que déjà le deuxième ou le troisième sporange a laissé échapper ses spores (fig. 34).

A l'intérieur du sporange le protoplasma est d'abord homogène, puis réticulé avec des vacuoles plus ou moins volumineuses; la cloison qui sépare le sporange du tube est plane ou légèrement concave. Un peu plus tard, au contraire, un travail

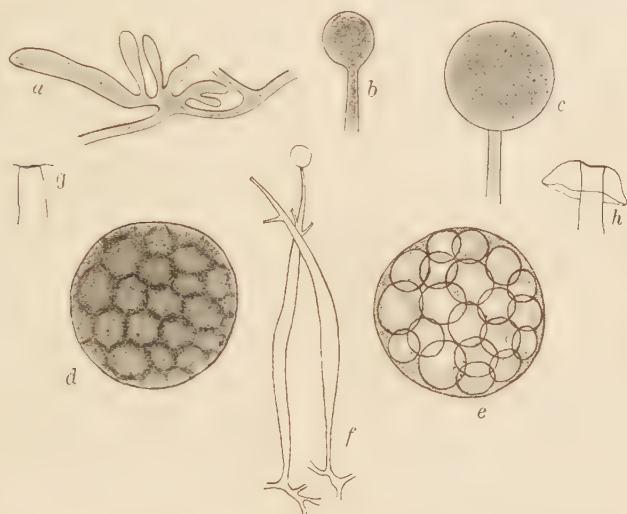


Fig. 34. — *Mortierella polycephala*. — *a*, Début de tubes sporangifères, gr. 670; *b*, Début de sporange, gr. 670; *c*, Sporange jeune, gr. 670; *d*, Sporange avec protoplasma montrant la division en polyèdres, gr. 670; *e*, Sporange mûr avec les spores, gr. 670; *g*, *h*, Extrémité du tube sporangifère avec collerette rabattue; *f*, Tubes sporangifères, gr. 415.

se fait à l'intérieur du sporange qui montre un certain nombre de petites sphères huileuses très réfringentes. Autour de ces sphères, le protoplasma se dispose comme les faces d'un polyèdre dont le globule semble occuper le centre; puis le protoplasma interne se concentre autour du globule réfringent central et forme une masse arrondie, tandis que la face externe du protoplasma semble se condenser en une membrane très mince, très diffluite. En même temps la partie protoplasmique qui formait les faces du polyèdre paraît se résorber, ou du moins se transformer en une masse gélatineuse qui maintiendra pendant quelque temps les spores agglutinées entre elles, même lorsque la membrane du sporange aura disparu. Quand on examine des spores au moment de la maturité, on les voit en effet

souvent nager dans le liquide de la préparation et se présenter sous une forme qui rappelle une *morula*. Cette membrane est extrêmement mince et se distingue difficilement, à partir du moment où les spores sont formées à l'intérieur du sporange : elle disparaît dès qu'elle est au contact de l'eau et il n'en reste qu'une faible partie à l'extrémité du tube sporangifère.

Les spores.

La spore du *Mortierella polycephala* est sphérique en général, parfois légèrement ovale ; elle présente un diamètre d'environ 10 à 14 μ ; mais ce diamètre est très variable et

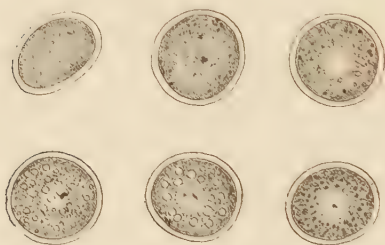


Fig. 35. — Sporangiospores à divers états : on y voit le protoplasma d'abord homogène, puis réticulé, avec noyaux surtout répartis à la périphérie, et des gouttelettes huileuses dans les spores plus âgées (fixées à l'alcool, gr. 850).

dans la même culture il n'est pas rare d'en rencontrer de très petites, d'environ 1 à 2 μ de diamètre et de très grandes allant jusqu'à 20 et même 25 μ . Les dimensions que je donne ont été prises comme moyenne d'un très grand nombre de mesures faites sur des spores provenant d'une culture en grande surface sur un substratum naturel, le fu-

mier de cheval. La spore jeune, au sortir du sporange, se montre formée d'une membrane très mince, à l'intérieur de laquelle se trouve un protoplasma d'abord homogène, puis finement granuleux, qui paraît tout d'abord régulièrement disposé à l'intérieur de la membrane et présente parfois une partie plus claire au centre (fig. 35). En examinant à un fort grossissement, avec l'objectif à immersion, une préparation fixée à l'alcool et colorée à la fuchsine ou à l'hématoxyline, on voit que ce protoplasma affecte une disposition finement réticulée, avec quelques noyaux qui paraissent plutôt disposés en petit nombre à la périphérie. Un peu plus tard, dans une spore plus âgée, la partie protoplasmique devient plus franchement réticulée, en même temps qu'apparaissent des gouttelettes huileuses disposées irrégulièrement du centre vers l'extérieur ; puis ces gouttelettes semblent se résoudre en un seul globule qui occupe le centre

de la spore, tandis que la partie protoplasmique reste autour du globule huileux central.

Les zygosporos.

J'ai observé, en 1902, les zygosporos du *Mortierella polycephala*; elles ont une forme arrondie, légèrement discoïde; elles apparaissent, au milieu du mycélium aérien, comme une tache blanchâtre qui brunit très rapidement, puis devient presque noire au bout de quelques mois. Elles ont un diamètre qui varie beaucoup et peut atteindre parfois 1 millimètre. Examinées au microscope, elles se montrent comme une tache arrondie noire que l'éclairage le plus intensif ne permet pas d'examiner par transparence. Elles sont entourées d'un réseau très serré de filaments mycéliens qui forme autour de l'œuf une sorte de buisson protecteur. Si on essaie de supprimer cette enveloppe, ce qui est extrêmement délicat, on n'est pas mieux renseigné sur la nature particulière de ces organes.

On sait que les zygosporos ont déjà été signalées par MM. Van Tieghem et Le Monnier, chez le *Mortierella nigrescens*, et par M. Brefeld, chez le *Mortierella Rostafinskii*.

Les zygosporos apparaissent par places au milieu du mycélium qui se montre, d'autre part, riche en sporanges et en chlamydosporos. Je les ai toujours rencontrées accompagnées de sporanges, et jamais dans les conditions où les sporanges n'apparaissent pas.

A l'endroit où on les observe, le mycélium est toujours plus compact; quand on les écrase en les plaçant sous une lamelle, on voit l'enveloppe de cet organe se briser en un endroit et le contenu protoplasmique s'en échappe en même temps qu'une multitude de gouttelettes d'huile reconnaissables à leur réfringence particulière.

Les renseignements techniques concernant l'étude de ces organes particuliers, si rarement observés chez les Mortierellées, font défaut, et les auteurs qui les ont signalés n'indiquent en aucune manière leur façon d'opérer quand il s'agit de les étudier d'une manière approfondie.

J'ai dû tâtonner longtemps avant d'arriver à un résultat significatif, et, encore aujourd'hui, en serais-je réduit, dans

cette étude, à les signaler tout simplement si je n'avais pu observer directement quelques états de leur développement.

L'observation directe ne permet pas de les étudier convenablement, à moins d'avoir affaire à des organes très jeunes, et ma première idée a été d'en faire des coupes. La méthode des coupes est extrêmement délicate à employer avec les *Mortiérellées* et les auteurs qui, comme Léger, les ont pratiquées, n'en ont obtenu que de médiocres résultats. Brefeld n'indique rien sur son mode opératoire. J'ai essayé le mode de fixation assez simple, préconisé par Léger [18]. Il consiste à fixer les organes dans l'alcool où on les laisse séjourner pendant quelques jours; puis on les transporte dans un tube dans lequel on verse quelques centimètres cubes de collodion, de telle sorte que la préparation à inclure soit complètement recouverte, et on ferme le tube avec un bouchon dans lequel on a taillé une petite gouttière permettant la communication avec l'extérieur.

L'éther du collodion, en s'évaporant lentement, laisse une masse résiduelle contenant l'objet à étudier et que l'on peut alors facilement couper au microtome et colorer ensuite. Cette méthode, qui réussit bien pour les coupes de spores et de mycélium de *Mucorinées*, ne m'a pas donné de résultats convenables pour la recherche que je poursuivais.

J'ai essayé d'une autre méthode, plus longue et plus minutieuse peut-être, et qui en me donnant un meilleur résultat, m'a permis de faire quelques dessins à la chambre claire. Malheureusement, ces préparations ne se conservent pas, et la difficulté réside toujours pour ces opérations, dans la délicatesse des tissus sur lesquels on opère, et que le rasoir le meilleur écrase toujours plus ou moins.

Je fixe les tissus, y compris les spores, chlamydospores et zygo-spores, en les laissant séjourner un temps variable soit dans le liquide de Flemming, soit dans le picroformol. Je les retire ensuite et les lave d'abord à l'alcool faible iodé, puis à des alcools de plus en plus concentrés, jusqu'à l'alcool absolu. Je les laisse vingt-quatre heures dans l'alcool à 90°, quarante-huit heures dans l'alcool absolu. Je les passe ensuite dans le chloroforme pur, après les avoir ainsi déshydratés, puis dans le chloroforme paraffiné. Enfin, pour l'inclusion définitive, je les laisse

dans la paraffine pure à l'étuve, pendant cinq ou six heures. J'obtiens ainsi un bloc de paraffine dans lequel se trouvent enrobés les tissus à étudier. Je coupe au microtome et j'obtiens une série de coupes que je traite par les divers colorants et que je fixe, après les précautions d'usage, dans le baume de Canada.

Ce procédé est loin de donner des résultats parfaits, mais il permet néanmoins de se rendre compte de la structure de la zygosporé (fig. 36).

La partie externe est très épaisse et ne présente pas une structure homogène. Sur la coupe, elle se montre formée par un feutrage serré laissant par places des espaces vides que le réactif n'a pas touchés. Elle a une épaisseur qui atteint presque le tiers du diamètre de la zygosporé, et à l'intérieur, elle laisse voir son contenu, constitué surtout de gouttelettes huileuses séparées de la paroi externe par une membrane relativement peu épaisse.

J'ai essayé de faire germer la zygosporé, mais jusqu'à présent les procédés employés ne m'ont pas donné les résultats que j'espérais.

Il est, en effet, extrêmement difficile de séparer complètement et rigoureusement la zygosporé du buisson de filaments qui forme son enveloppe. Ou bien, la zygosporé se brise sous le scalpel : les fragments qui en proviennent sont encore plus difficiles à séparer de leur enveloppe, et alors le développement, s'il a lieu, ne peut pas être attribué nécessairement à l'œuf lui-même ; ou bien, la zygosporé ne se brise pas, et il est difficile d'affirmer que l'enveloppe externe plus ou moins cutinisée à l'extérieur n'a pas emprisonné dans ses mailles une spore ou une chlamydospore qui, elle, germera, et pourra faire croire à la germination de la zygosporé.

J'ai tourné la difficulté en cherchant les conditions dans lesquelles la zygosporé pourrait résister, tandis que les filaments mycéliens ou les spores et les chlamydospores seraient

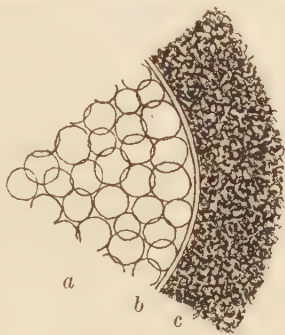


Fig. 36. — Coupe à travers la zygosporé (une partie seulement a été représentée, gr. 170). — a, Gouttelettes huileuses; b, Membrane de l'œuf; c, Enveloppe formée par les filaments vides de protoplasma.

tués. Ces dernières, ainsi que le mycélium, séjournant dans de l'acide chlorhydrique à 1/1000 ne perdent pas la faculté de germination. Plongées pendant vingt-quatre heures dans l'acide chlorhydrique à 1/100, ni les uns ni les autres ne peuvent germer. J'ai donc laissé séjourner des zygosporos pendant plusieurs jours dans de l'acide chlorhydrique au 1/100, de façon à tuer les spores et les filaments. Dans ces conditions les zygosporosensemencées m'ont donné un mycélium normal et non pas immédiatement des sporanges, comme le dit M. Van Tieghem à propos du *Mortierella nigrescens*. Je n'ai pas cependant la prétention d'infirmer les conclusions de ce savant en ce qui concerne la germination de la zygosporos; il est possible que la zygosporos emprisonne dans les mailles de sa capsule des spores qui résistent à l'agent destructeur employé et je ne peux pas encore affirmer que dans les conditions où les zygosporos se trouvaient placées, ce sont les œufs qui ont germé.

MM. Van Tieghem et Le Monnier ont obtenu la germination de la zygosporos de *Mortierella nigrescens* [7], et ont observé que la germination de cet œuf donne lieu à un sporangios. Brefeld qui a observé la zygosporos de *Mortierella Rostafinskii* [8] « a vainement attendu une véritable germination de la zygosporos ». Au bout de quelques mois les capsules étaient fanées et brisées; le contenu de la spore jaunissait et la spore elle-même mourait. Lorsqu'on avait débarrassé avec précaution une centaine de zygosporos de leurs capsules avant de les semer, le résultat était identique, les spores mouraient. En laissant les spores sur le substratum où elles avaient pris naissance, on n'obtenait aucun résultat.

En laissant les zygosporos se reposer pendant quelques temps, Brefeld n'obtenait pas de meilleurs résultats et il émettait l'idée que peut-être les zygosporos peuvent avoir perdu généralement toute faculté de germination [8], (page 88).

Renonçant pour le moment à la possibilité de voir germer la zygosporos obtenue, j'ai cherché à découvrir sans aucune préparation, par le seul examen microscopique, la formation de cette zygosporos si rarement entrevue chez les Mortiérillées. Il n'est guère possible de chercher à assister à cette formation

en suivant le développement du *Mortierella* dans la cellule de Van Tieghem; on peut voir parfois des filaments se renfler et venir s'accoler l'un contre l'autre, comme s'ils devaient se fusionner, mais le développement ne va pas plus loin et ne donne autre chose qu'un mycélium et des chlamydo-spores. Le seul moyen à employer, consiste à examiner très souvent un mycélium en voie de développement. J'ai observé ainsi, dans le seul but de voir la formation de la zygospore, plus d'un millier de préparations. A cet effet, on prélève aseptiquement une parcelle du mycélium et on l'examine sans aucune dissection, sans aucune préparation, sous le microscope à un fort grossissement. On peut, avec beaucoup de patience, découvrir, au milieu d'un mycélium extrêmement fin et délicat, des aspects différents de l'organe à étudier et les dessiner tels qu'on les rencontre.

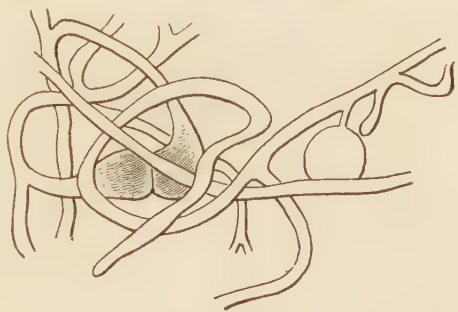


Fig 37. — Filaments renflés qui deviendront les gamètes et qui se montrent déjà accolés mais ne présentent pas encore de cloisons, gr. 750.

La difficulté est rendue plus grande par ce fait qu'avant la conjugaison des gamètes, les filaments qui vont s'unir sont déjà entourés d'un réseau plus ou moins serré de filaments qui vont se multiplier beaucoup pour protéger l'œuf dès qu'il sera formé.

J'ai pu suivre ainsi la formation de ces zygospores, et les dessins que je représente, dessinés à la chambre claire, indiquent les différents stades de la formation de l'œuf. Au milieu d'un réseau de filaments mycéliens déjà plus resserrés qu'ailleurs, on peut voir deux branches qui se dirigent l'une vers l'autre en renflant leurs extrémités et en se recourbant déjà en forme de crosses (fig. 37). Ce n'est pas toujours dans le voisinage des sporanges que se fait cette différenciation. Les deux branches copulatrices sont quelquefois de même taille, mais dans plusieurs cas observés, elles peuvent être légèrement différentes.

Ces deux branches sont remplies d'un protoplasma homo-

gène, peut-être un peu plus dense que dans les autres régions, et elles se séparent bientôt du reste du filament par une cloison qui va ainsi séparer les deux gamètes dont la fusion formera l'œuf (fig. 38). Lorsque les deux filaments arrivent en contact, ils n'ont pas toujours atteint leurs dimensions définitives et ils s'accroissent alors, tout en restant accolés, jusqu'au moment de la fusion des deux espèces de protoplasma. La cloison de séparation est difficile à apercevoir, car au moment

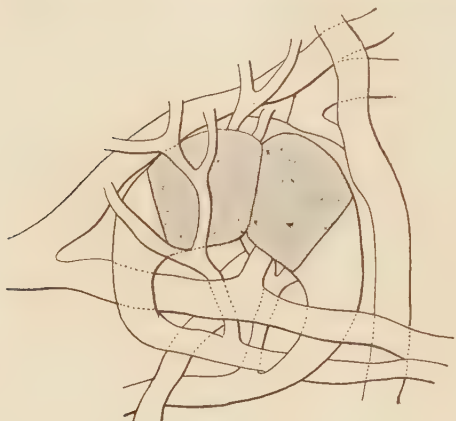


Fig. 38. — Deux gamètes, montrant la cloison qui les sépare du reste du filament. Ils ne sont pas encore fusionnés, mais se montrent déjà entourés de quelques filaments protecteurs (Obj. immersion, gr. 780).

de sa formation, les deux filaments qui vont se conjuguer sont déjà entourés d'un certain nombre de filaments issus soit de la base des deux gamètes, soit des filaments voisins; ces derniers se divisent et se ramifient tout autour des deux crosses, de sorte que l'observation en est de plus en plus difficile. Pendant un certain temps, les ga-

mètes s'accroissent encore, tandis que leur protoplasma semble se contracter à l'intérieur : alors se fait la résorption de leurs cloisons en regard et la fusion des deux gamètes. En même temps, les filaments extérieurs se sont beaucoup ramifiés et il faut alors essayer soit le procédé des coupes, soit le procédé de l'écrasement pour observer l'œuf au moment où il vient de se former. A ce moment, il n'a pas encore sa forme définitive, mais peu à peu il va s'agrandir et s'arrondir en repoussant sa membrane contre l'enveloppe externe des filaments qui, de leur côté, en se divisant, se serrent les uns contre les autres, s'anastomosent et se fusionnent; ils finissent par former autour de l'œuf un feutrage très serré dont il est malaisé de le débarrasser. On comprend que dans ces conditions, il soit difficile, même dans les coupes les mieux faites et les plus réussies,

de pouvoir distinguer nettement les restes des deux filaments copulateurs (fig. 39). Après la conjugaison, ces deux branches doivent disparaître au milieu des autres filaments, comprimées par suite du développement considérable des rameaux protecteurs. Il me paraît impossible qu'elles puissent conserver à la fois leur forme et les dimensions qu'elles avaient au moment de la conjugaison. Du reste, MM. Van Tieghem et Le Monnier, qui ont suivi le développement de la zygospore de *Mortierella nigrescens*, indiquent bien dans leur mémoire que le dessin qu'ils en donnent représente une coupe théorique.

En résumé, j'ai rencontré dans le *Mortierella polycephala* les organes reproducteurs suivants :

1° Les chlamydospores aériennes pédicellées, échinulées, que M. Van Tieghem désigne sous le nom de stylospores ;

2° Des chlamydospores sessiles ;

3° Des sporangiospores ;

4° Des kystes (chlamydospores aquatiques) ;

5° Des zygospores.

J'ai essayé, selon la méthode indiquée par M. Blakeslee [30], de rechercher si le *Mortierella polycephala* est homothallique ou hétérothallique. A cet effet, j'isolai successivement une spore et une chlamydospore, je les transportai aseptiquement dans un tube contenant de la gélose et j'observai le développement.

Les zygospores se forment toujours sur milieu glucosé en même temps que les sporanges soit à partir de la spore, soit à partir de la stylospore. On peut donc affirmer que le *Mortierella polycephala* est homothallique. Comme la plupart des Mucorinées sont hétérothalliques, le *Mortierella polycephala* se placerait à côté de *Sporodinia grandis* et de *Spinellus fusigera* parmi les espèces des Mucorinées considérées comme homothalliques par l'auteur américain [30].

Dans l'état actuel de mes recherches, je n'ai pas encore pu obtenir d'une façon sûre la germination des zygospores ; je ne



Fig. 39. — Œuf formé observé après l'écrasement de la préparation. — On distingue les restes des deux gamètes à travers le feutrage très serré des filaments mycéliens, gr. 750.

peux donc pas dire, comme MM. Van Tieghem et Le Monnier, si elles germent en donnant un sporange, et par conséquent si le *Mortierella polycephala* présente dans son développement une alternance de générations, ou si, comme le prétend Brefeld, ce sont des organes ayant perdu toute faculté de germination. Peut-être un peu plus tard, quand mes recherches sur ce sujet seront plus avancées, pourrai-je, en tout état de cause, formuler une opinion s'appuyant sur des faits précis. Je me suis borné pour l'instant à chercher dans quelles conditions peuvent se former ces différents organes et ce sont ces recherches que je vais maintenant exposer.

2° INFLUENCE DES CONDITIONS PHYSIQUES EXTÉRIEURES SUR LA CROISSANCE ET SUR LA FORMATION DE L'APPAREIL REPRODUCTEUR DU *MORTIERELLA POLYCEPHALA*.

A ma connaissance, il existe peu d'ouvrages qui traitent de la biologie des Mortiérellées. A part les mémoires justement réputés de MM. Van Tieghem et Le Monnier sur les Mucorinées (et ils traitent des Mucorinées en général, et non pas spécialement des Mortiérellées), il existe un bon travail de Hans Bachmann, publié dans les *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik* du professeur Pringsheim, en 1900. Bachmann étudie une nouvelle espèce, *Mortierella Van Tieghemi* [44], au double point de vue morphologique et physiologique, et les résultats qu'il donne sont intéressants à plusieurs points de vue.

Une condition primordiale, dans ces questions de physiologie, est d'obtenir des cultures pures; la nécessité n'en est plus à démontrer et il faut de toute façon les réaliser avant de pouvoir formuler des conclusions de quelque valeur. Telle culture pure qui, d'ordinaire, produit un mycélium abondant et un appareil fructifère complet et bien développé, peut, dans les mêmes conditions physiques ou chimiques, donner un mycélium très misérable et un appareil fructifère très réduit ou même très modifié, si la culture est envahie par les bactéries ou des moisissures. J'ai plusieurs fois obtenu, par accident, des cultures semblables.

Technique et choix du milieu de culture.

Toutes mes cultures ont été réalisées dans des tubes de Roux, dans des ballons Pasteur, des boîtes de Pétri, etc., stérilisés à l'autoclave à 120°. Quand j'ai voulu faire des cultures en grandes surfaces, j'ai toujours pris soin de stériliser la coupelle à l'autoclave après l'avoir flambée; l'assiette contenant la coupelle était elle-même flambée au bec Bunsen, ainsi que le

disque de verre qui devait la recouvrir; puis la coupelle était elle-même introduite aseptiquement dans l'assiette remplie du milieu nutritif approprié, puis stérilisée de nouveau à 120° et ensemencée.

J'avais à faire choix d'un milieu qui pût me servir dans toute la suite de mes études; je pouvais choisir un milieu liquide ou un milieu solide; j'essayais dans ce but des milieux liquides. Le liquide Raulin, formé d'eau (2000), de sucre (70), d'azotate d'ammoniaque (3), d'acide tartrique (2), et de traces de phosphate d'ammoniaque, de carbonate de potasse, de chaux et de magnésie, n'est pas propice à la germination des spores du *Mortierella polycephala* et je n'obtenais aucun résultat. Je simplifiais la composition du milieu en ne prenant que de l'eau, du sucre, de l'azotate d'ammoniaque et de l'acide tartrique à peu près dans les mêmes proportions, mais en faisant varier la proportion de l'un de ces corps; ces essais préliminaires ne me donnèrent rien et ne servirent qu'à me démontrer que si la composition chimique du champignon se ramène à quelques éléments (comme le carbone, l'oxygène, l'azote, l'hydrogène), il ne suffit pas de lui fournir ces éléments à l'état de sels minéraux ou de composés organiques, il faut encore, ou bien les lui fournir en présence d'un substratum solide sur lequel il puisse développer son mycélium ou bien lui fournir ces aliments sous une autre forme chimique.

Sur un substratum solide, formé de silice gélatineuse imprégnée de ces divers liquides, je n'obtins pas davantage de résultat et je renonçai à ces milieux tout artificiels pour adopter un milieu mixte formé à la façon des milieux Sabouraud, et comprenant :

Eau 500 grammes, peptone (toujours de la même marque) 3^{gr},5, gélose 7^{gr},5, sucre 18^{gr},5.

Un pareil milieu est, grâce à la gélose, solide jusque vers 50° et plus, tandis que la gélatine se liquéfie à une température plus basse; de plus, il n'est pas assez solide pour que le mycélium ne puisse s'étendre à l'intérieur, et quoique sa préparation soit un peu longue, c'est presque toujours ce milieu que j'ai employé, à cause de sa composition chimique qui ne se modifie pas. En tout cas, il est assez facile de varier

la proportion de l'élément sucré, ou même de le remplacer par un autre sucre (tous les autres éléments restant fixes), et d'étudier ainsi l'influence soit du milieu, soit des conditions extérieures, et de comparer les résultats obtenus.

J'ai opéré de diverses façons ; chaque fois que j'ai pu le faire, j'ai fait, heure par heure, mes observations en cellule de Van Tieghem. Quand je ne pouvais pas cultiver en cellule et que l'expérience portait sur une grande surface, j'observais macroscopiquement et je notais au fur et à mesure les indications que me fournissait l'examen attentif du mycélium, soit à l'œil nu, soit à la loupe. De temps en temps, je prélevais en des points différents de la culture, des fragments de mycélium que j'observais ensuite au microscope et que je dessinais à la chambre claire. Je pouvais ainsi me rendre compte de la durée de germination (1), de la croissance plus ou moins rapide du mycélium, de l'apparition, de la forme et des dimensions de l'appareil fructifère, des filaments mycéliens, et comparer ainsi les résultats obtenus dans les diverses circonstances où j'opérais. Mes expériences étaient répétées plusieurs fois dans les mêmes conditions et c'est toujours après en avoir vérifié les résultats que je les notais.

Dans les boîtes de Pétri en milieu gélosé, on peut ensemer ASEPTIQUEMENT en touchant le point central du substratum avec un fil de platine portant quelques spores. La germination des spores a lieu en général au bout de quelques heures, mais il est évident qu'on n'assiste pas à la germination comme dans une cellule de Van Tieghem ; les premiers stades de la germination passent donc inaperçus, et la croissance du champignon ne devient sensible que lorsque les filaments mycéliens commencent à s'étaler en se ramifiant autour du point ensemené. A partir de ce moment, le mycélium s'accroît régulièrement, et s'étend sous la forme d'un fin duvet dont on peut suivre la marche progressive vers les bords de la boîte. Tant que ces bords ne sont pas atteints, il se ramifie très peu dans l'air, et les filaments,

(1) Pour abrégér, je désigne par les mots « durée de germination », le temps qui s'écoule depuis l'ensemencement jusqu'à l'apparition des premiers filaments qu'on peut observer facilement à la loupe ou même à l'œil nu.

s'ils se dressent à ce moment, sont toujours stériles. Le mycélium apparaît donc comme un fin réseau appliqué contre le substratum et forme autour du point primitivement touché, une tache qui gagne d'heure en heure les bords du récipient. Le cercle ainsi tracé par le champignon est parfaitement marqué et délimité, et rien n'est plus facile que d'en mesurer le diamètre pour se rendre compte de la vitesse d'accroissement du mycélium. Quoi qu'il en soit, l'allure plutôt lente avec laquelle le mycélium s'étend dans une boîte de Pétri semble bien loin des affirmations de certains auteurs qui prétendent que toute une serre peut être envahie par les *Mortierella*, et les plantations compromises dans l'espace de quelques heures. Je prends comme exemple une culture faite dans le but de vérifier une dernière fois des résultats observés précédemment.

Le 27 janvier, j'ensemenciais, comme il est dit plus haut, une boîte de Pétri en touchant avec le fil de platine le centre de la partie nutritive. J'obtenais les résultats suivants à la température moyenne de 16°.

Le 28 janvier à 4 heures de l'après-midi, le mycélium apparaissait,			
autour du point ensemencé, sous la forme d'un fin			
duvet, arrondi en forme de cercle dont le dia-			
mètre était de.....			
			1 mm.
» 29	—	à 8 h. du soir, la plage mycélienne s'étendait sur un diamètre de	4 cm.
» 30	—	8 h. du matin, »	1 ^c ,8
	—	8 h. soir, »	2 ^c ,0
» 31	—	8 h. matin, »	2 ^c ,5
	—	midi, »	2 ^c ,8
	—	8 h. soir, »	3 ^c ,0
» 1 ^{er} février	à 8 h. matin,	»	3 ^c ,5
	—	midi, »	3 ^c ,8
	—	8 h. soir, »	4 ^c ,2
» 2	—	8 h. matin, »	4 ^c ,5
	—	midi, »	5 ^c ,0
	—	8 h. soir, »	5 ^c ,2
» 3	—	8 h. matin, »	5 ^c ,9
	—	midi, »	6 ^c ,0
	—	8 h. soir, »	6 ^c ,5
» 4	—	8 h. matin, »	6 ^c ,9

A midi, les bords de la boîte de Pétri étaient atteints et le mycélium commençait alors à se développer franchement en hauteur, d'abord sur les bords où les parois de la boîte semblaient servir de supports aux filaments qui allaient y

adhérer; puis le développement gagnait de proche en proche le centre de la culture, et bientôt toutes les parties du substratum étaient couvertes par le mycélium formant une sorte de gazon d'une blancheur éclatante. Tant que le mycélium n'avait pas atteint les bords de la boîte et ne s'élevait pas dans l'air, les filaments restaient stériles et les fructifications y étaient peu abondantes; mais lorsque les filaments commençaient à se dresser avec abondance, les chlamydospores d'abord, puis les sporanges et parfois les zygosporés faisaient leur apparition et il était aisé de s'en rendre compte par l'examen microscopique.

Ainsi donc, dans une boîte de Pétri, la vitesse d'accroissement du mycélium est assez lente puisqu'il faut au moins neuf jours pour qu'il couvre toute la surface du substratum. On peut représenter cette vitesse en fonction du temps suivant le mode graphique adopté par les physiiciens et on a la courbe suivante sur laquelle les temps sont portés en abscisses, et le diamètre mesuré des plages mycéliennes en ordonnées :

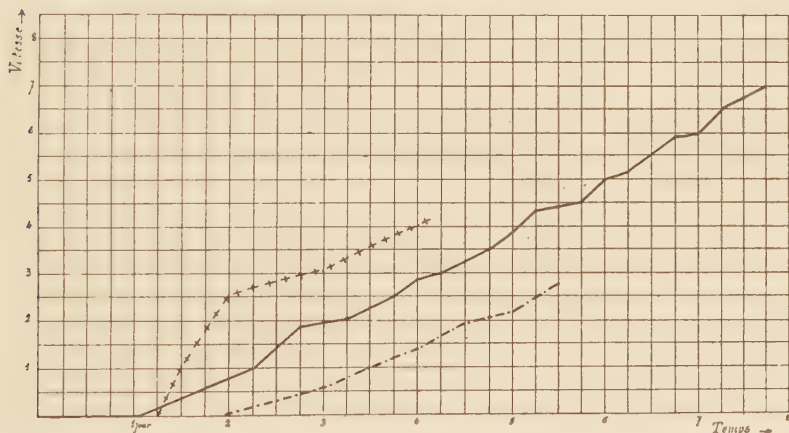


Fig. 40. — Courbes permettant de comparer la vitesse d'accroissement du mycélium dans des cultures sur gélose, faites :

- 1° En boîte de Pétri —————
- 2° En tubes de Roux-.....
- 3° En ballons Pasteur ++++++

On peut voir, d'après l'allure générale de cette courbe, que le développement, lent d'abord pendant les deux premiers jours, prend ensuite une allure très régulière, et que l'alternance du

jour et de la nuit ne semble pas avoir d'effet bien marqué sur l'accroissement du mycélium.

Dans un tube de Roux de 2 centimètres de diamètre, et où le substratum s'étendait à partir du point touché sur une longueur de 4 centimètres, j'observais les faits suivants :

Le tube était ensemencé par contact le 10 janvier à dix heures du soir ; quarante-huit heures après, j'observais l'apparition macroscopique des premiers filaments mycéliens ; soixante-douze heures après, ils s'étendaient sur un diamètre de 6 millimètres ; le lendemain ils occupaient une surface de 12 millimètres de diamètre.

Dans un ballon Pasteur, les premiers filaments mycéliens apparaissaient à peu près dans le même temps que dans une boîte de Pétri, environ trente-six heures après l'ensemencement ; puis ils s'épalaient à la surface du milieu et je notais les chiffres suivants :

Le milieu était ensemencé le 9 janvier à 8 heures du soir :

Les filaments apparaissaient le 11 à 8 heures du matin, formant une plage très peu étendue.

Le 11 à 8 h. soir, le mycélium s'étendait sur une plage de...	1 centim.
» 12 à 8 h. matin, » » »	2 ^c ,5
» 13 à 8 h. soir, le mycélium commençait à se développer dans l'air et présentait une plage de.....	3 centim.
» 14 à 10 h. soir, » » »	4 —

Le ballon n'étant pas plus large de diamètre, la culture s'élevait rapidement dans l'air et les fructifications se développaient partout abondamment.

Si la durée de germination est sensiblement la même, on voit donc, à la seule inspection des courbes précédentes, que la forme du récipient dans lequel se fera la culture ne sera pas à négliger et que les résultats, pour être comparables, devront provenir d'observations faites dans les mêmes appareils. Si, dans le ballon Pasteur, la croissance est plus rapide dès le début, on peut, sans crainte de se tromper, attribuer ce fait au volume plus grand de l'air qui surmonte le substratum.

Influence de la température.

L'influence de la température a été étudiée par quelques auteurs, Klebs, Siebenmann, Bachmann, Elfving, etc. Pour Siebenmann [27] qui a étudié *Eurotium repens*, *Aspergillus flavus*,

Aspergillus niger (*Sterigmatocystis nigra*), *Aspergillus fumigatus*, etc., la température pour laquelle la croissance du champignon paraît se faire dans les conditions les meilleures, est 10 à 15° C. pour l'*Eurotium repens* qui meurt vers 25°. D'après Elfving [27 bis], l'optimum de température est de 20 à 25° pour l'*Eurotium herbarium*. De même J. Olsen, qui considère *Eurotium repens* comme une variété de *Eurotium herbarium*, prétend que, au delà de 30°, ce champignon ne se développe plus.

Klebs, qui a étudié à ce point de vue *Eurotium repens*, *Mucor racemosus* et *Sporodinia grandis*, prétend que l'espèce étudiée par lui se comporte autrement que ne l'indique Siebenmann. Il donne comme minimum une température voisine de 7°, comme température optima 27-29° et comme température maxima 37-38°. Cependant il indique qu'il n'a pas poussé l'étude au delà de cette dernière température, de telle sorte que nous sommes indécis sur la température maxima à laquelle peut croître *Eurotium repens* [23].

Bachmann, qui a étudié à ce sujet *Thamnidium elegans* et *Mortierella Van Tieghemi*, donne comme températures minima, optima et maxima, 0°, 27° et 31° pour le premier; et 15° (opt.), 20° (max.) pour le *Mortierella Van Tieghemi* pour lequel il n'a pas recherché le minimum [28] [44].

On voit, d'après ce qui précède, que pour des espèces semblables, sinon identiques, les auteurs ne sont pas d'accord, ou que les résultats qu'ils donnent dépendent de la variété étudiée. J'ai donc été naturellement amené à diriger mes recherches dans le même sens en ce qui concerne *Mortierella polycephala*. J'ai pu étudier l'action des températures les plus basses et j'ai été à même de constater que ce facteur, s'il n'est pas prépondérant, intervient pour beaucoup dans la germination, la croissance et la fructification du champignon.

J'ai recherché si des spores de *Mortierella polycephala* pouvaient germer à la température de l'air liquide, et si elles gardaient leur faculté de germination. Je plongeais à cet effet des tubes de gélose et de carottes préalablementensemencés, dans un ballon de Dewar à air liquide. On sait que ces ballons, à double enveloppe argentée intérieurement et entre lesquels on a fait le vide, peuvent conserver l'air liquide pendant cinq

à six jours, si la température extérieure ne dépasse pas une quinzaine de degrés C., pendant plus longtemps, si la température extérieure est plus basse. J'ai conservé à plusieurs reprises un de ces ballons pendant huit jours, les tubes de culture plongeant à l'intérieur de l'air liquide, c'est-à-dire soumis à une température d'environ 180° au-dessous de zéro. Naturellement, comme on pouvait s'y attendre, aucune germination ne s'est produite pendant ce temps, mais il est intéressant de constater qu'après un pareil traitement les spores et les chlamydo-spores ont pu germer, un peu lentement, il est vrai, et donner un mycélium tout aussi riche et tout aussi abondant que dans les conditions ordinaires. J'ai constaté la présence des premiers filaments mycéliens au bout de huit jours seulement. C'est dire que si ce froid considérable n'a pas tué les spores, il a eu au moins pour résultat d'en retarder considérablement la germination lorsqu'elles ont été replacées dans les conditions ordinaires.

J'ai étudié de même l'action de la température obtenue par un mélange réfrigérant (sel marin et glace) qui abaisse la température à -12° . Tant que cette température a été maintenue aussi basse, aucune germination ne s'est produite, mais lorsque les tubes ont été replacés dans les conditions ordinaires, la germination s'est produite, avec un retard moindre que précédemment. Elle a eu lieu en général au bout de cinq à six jours.

J'ai obtenu des résultats identiques avec des cultures soumises à la température moyenne de -4° ; pendant les derniers jours de décembre 1907, où la température extérieure s'est maintenue pendant près d'une semaine au-dessous de 0° et a oscillé entre 0° et -7 ou -8° , les tubesensemencés et exposés au dehors n'ont pas germé, pas plus que des cultures que j'ai maintenues à la température constante de la glace fondante pendant plus de quinze jours. Dans tous les cas précédents, après avoir constaté l'insuccès de la germination, j'ai placé ces tubes dans mon laboratoire à la température de 15° C. L'effet général et régulier de ces basses températures est, d'abord d'empêcher la germination, tant que les cultures y sont exposées, puis de retarder la germination quand elles sont replacées dans les conditions ordinaires; le retard est d'autant plus

grand que la température à laquelle elles ont été soumises a été plus basse et que son action s'est fait sentir plus longtemps.

Les cultures ainsi traitées donnent, après quelque temps, un mycélium assez abondant, dont le protoplasma dégénère très rapidement en gouttelettes d'huile, en même temps que les tubes mycéliens présentent de place en place des cloisons. Les fructifications sont réduites à des chlamydospores échinulées assez abondantes, avec grosses masses huileuses réfringentes ; elles sont de dimensions très variables, portées à l'extrémité de courts pédoncules ; on trouve quelques chlamydospores mycéliennes. On ne voit pas de sporanges, même au bout d'un mois : il semble que si la germination n'a pas été empêchée par l'abaissement de la température, la circulation protoplasmique n'a pas été assez active ou du moins s'est trop vite ralentie pour que ces organes puissent se produire. Le champignon devient « vieux » de bonne heure. Le diamètre des chlamydospores échinulées peut varier depuis 7 à 8 μ . jusqu'à 20-22 μ . : les filaments mycéliens ont un diamètre qui varie entre 2 et 3 μ . D'une façon générale, les tubes mycéliens sont peut-être plus gros et les chlamydospores plus petites que lorsque le champignon pousse à la température ordinaire.

J'employais, pour étudier l'action de températures plus élevées, une étuve à manchon d'eau chauffée au gaz d'éclairage et réglable à volonté. J'examinais les cultures plusieurs fois par jour et je notais le moment où apparaissait le mycélium, sa vitesse d'accroissement, enfin j'examinais régulièrement au microscope l'apparition des fructifications.

Voici, par exemple, pour ces températures supérieures à 0°, les résultats obtenus dans une de mes dernières séries d'expériences.

Des spores et des chlamydospores ont étéensemencées dans une demi-douzaine de tubes à gélose, à la température moyenne de 4° C., le 23 janvier 1907 à dix heures du soir, et examinées régulièrement plusieurs fois par jour. Le 24, on n'a rien observé ; le 25, rien encore ; le 26, à minuit, on a commencé à apercevoir à la loupe les premiers filaments mycéliens, indice macroscopique du début de la germination, que l'on pouvait suivre dès lors à l'œil nu. Le 27 au soir cette petite plage mycé-

lienne n'avait qu'un centimètre et demi de diamètre et l'accroissement était si lent que le 31 janvier, c'est-à-dire huit jours après l'ensemencement, le mycélium rampant, peu dressé, couvrait à peine une surface de 1 centimètre de diamètre. Le 2 février, c'est-à-dire dix jours après l'ensemencement, la surface couverte avait 1^{cm},5 de diamètre. Si l'on compare cette vitesse d'accroissement à celle d'une culture faite à 20°, on voit qu'elle est environ trois fois plus faible.

Au microcospe, on voyait un mycélium à filaments très fins, à protoplasma granuleux dans les parties jeunes, trabéculaires, dans les parties âgées, avec nombreuses gouttelettes huileuses. Les fructifications étaient très peu abondantes au bout de dix jours ; c'étaient des chlamydospores échinulées, portées à l'extrémité de filaments de 1 ou 2 μ de diamètre, quelquefois très longuement pédicellées et dont le diamètre variait de 17 à 20 μ , quelquefois plus. On y trouvait des chlamydospores mycéliennes, sessiles, pas encore de sporanges ni d'œufs.

J'ai donné plus haut l'allure générale du développement du *Mortierella polycephala* à la température de 15° C. (fig. 40).

A la température de 22°, la germination se fait un peu plus rapidement : des tubes de gélose étaient ensemencés le 3 janvier à midi, et montraient déjà un commencement de mycélium, vingt-huit heures après ; un jour plus tard, le mycélium présentait une surface large de 1 cm. ; deux jours après, il s'étendait sur une surface de 4 cm. ; au bout de sept jours, la plage mycélienne était de 6^{cm},5. On trouvait alors comme fructification des chlamydospores échinulées de 16 à 17 μ de diamètre : les filaments avaient un diamètre de 2 μ environ.

A la température de 25°, les spores germaient au bout de seize heures.

A la température de 27° les spores et les chlamydospores germaient au bout de douze heures exactement.

Étant données les conditions identiques du milieu dans lesquelles elles ont toujours été placées, c'est le temps minimum que j'ai observé pour la germination des spores de *Mortierella polycephala* en milieu gélosé ; et c'est certainement cette température de 27° C. qui est l'optimum pour la germination de ce champignon. Les tubes mycéliens ont un diamètre de 1 à 2 μ ;

les chlamydospores ont les dimensions ordinaires, environ 20 μ . Ce qu'il y a de remarquable dans la croissance du champignon à cette température, c'est que très rapidement, au bout de cinq à six jours, les filaments mycéliens très développés s'étendent dans tout le tube et continuent malgré cela à s'accroître, se serrant de plus en plus les uns contre les autres au point de former une sorte de feutrage assez résistant que le fil de platine a de la peine à pénétrer. Au bout de quinze jours, les seules fructifications que l'on rencontre sont des chlamydospores échinulées; il n'y a pas encore trace de sporanges. Il est probable que l'énorme développement du mycélium est une condition très défavorable pour leur formation; il entraîne en effet une diminution considérable de l'espace dans lequel les filaments sporangifères pouvaient se dresser et, par suite, leur suppression.

A la température de 32°, les spores germent encore mais seulement au bout de dix jours, et le mycélium est très misérable.

A partir de cette température, les conditions sont mauvaises pour la germination. Elles sont d'autant plus mauvaises que la température s'élève. Les spores soumises à la température de 38° ne germent pas à l'étuve; elles gardent encore leur faculté de germination, mais germent au bout de cinq jours. A 45° et à des températures supérieures, les spores de *Mortierella polycephala* sont tuées.

Dans les essais de culture à ces températures, les semis étaient maintenus plusieurs jours et même plusieurs semaines à l'étuve. Je les y maintenais d'autant plus longtemps que la température était plus élevée; non seulement les spores ne germaient pas, mais les cultures ne réussissaient pas mieux lorsqu'après ce traitement, mes tubes étaient placés de nouveau dans les conditions ordinaires.

Il est donc évident pour moi que les spores sont tuées à partir de la température de 40°.

Le tableau suivant résume les indications précédentes.

TEMPÉRATURE	DURÉE de germination.	MYCÉLIUM	FRUCTIFICATIONS
Au-dessous de 0°.	Pas de germinat.	»	»
0°	Id.	»	»
4°	3 jours.	Peu abondant.	Chlamyd. échinul.
10°	Id.	Id.	Id.
15°	2 jours.	Normal.	Chlamyd. échinu-
22°	1 jour 6 heures.	Id.	lées et lisses,
27°	12 heures.	Très abondant, très serré.	spores, œufs. Chlamydospores.
30°	4 jours.	Id.	Id.
38°	Ne germe pas.	»	»
45°	Id.	»	»
50°	Id.	»	»

On peut représenter graphiquement ces résultats en prenant comme axe des abscisses la température et comme axe des ordonnées la durée de la germination.

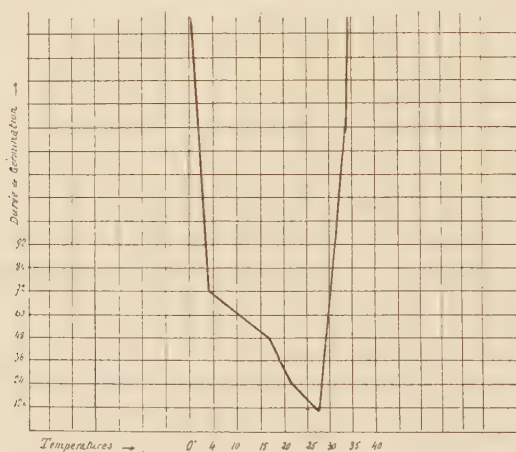


Fig. 41. — Courbe indiquant la durée de la germination en fonction de la température.

En rapprochant dans un tableau comparatif ces résultats de ceux obtenus pour d'autres Mucorinées, on voit qu'il serait bien téméraire d'en tirer une conséquence générale, dans l'état actuel de nos connaissances, sur la physiologie des champignons. Tout ce qu'on peut en déduire, c'est que les conditions minima, maxima et optima de température sont variables pour chaque espèce. Pour le *Mortierella polycephala*, les sporanges se forment bien entre 10 et 25° avec un optimum vers 17°. Les

ESPÈCES	OPTIMUM 0° C.	MINIMUM	MAXIMUM	AUTEURS
<i>Mucor racemosus</i>	20-23	4	32-33	Klebs.
<i>Sporodinia grandis</i> ...	21-24	1-2	29-30	»
<i>Thamnidium elegans</i> ..	27	0	31	Bachmann.
<i>Mortierella</i> Van Tiegh.	15	?	20	»
— <i>polycephala</i> .	17	4	27	J. Dauphin.

chlamydospores se forment bien dans les limites où le mycélium lui-même peut se développer, c'est-à-dire entre 3-4° et 28-29°.

Les zygosporos se forment bien entre 15-22° C.

Il résulte de ce qui précède que les sporanges ne se forment qu'entre 15° et 23 à 30°. Faut-il admettre que cela est dû, comme le dit M. Van Tieghem, « à ce que les branches rampantes du mycélium n'étant ni trop serrées, ni trop enchevêtrées, peuvent respirer à l'aise et trouver dans l'atmosphère qui les entoure une quantité suffisante d'oxygène à consommer; ou bien à une insuffisance de nutrition, soit que le milieu se trouve lui-même peu nutritif, soit que les tubes s'y pressent et s'y enchevêtrent en trop grand nombre » [6, (p. 98)]? Les stylospores se développent, d'après le même auteur, lorsque le mycélium, très largement nourri et très vigoureux, forme une trame épaisse où l'activité respiratoire diminue bientôt la proportion d'oxygène contenue dans l'atmosphère confinée où végète la plante.

Faut-il, comme Klebs l'indique pour le *Mucor racemosus* et le *Sporodinia grandis* [23] [24], attribuer seulement une faible importance à l'action de l'oxygène, ou ne pas lui en attribuer du tout et considérer que cette formation est due plutôt à l'état hygrométrique de l'air? Le *Sporodinia grandis* forme des zygoles lorsque l'humidité est 95 à 100 p. 100; quand l'état hygrométrique varie de 45 à 80 p. 100, il donne des sporanges; de 80 à 95 p. 100, il forme à la fois les deux espèces de fructifications et l'auteur conclut qu'un ralentissement de la transpiration produit des zygoles, que l'accélération du même phénomène produit des tubes sporangifères. Un autre facteur considéré par Klebs est l'insuffisance de nourriture. Une nutrition peu abondante conduit au même but que la transpiration, si elle n'agit pas d'une manière aussi active; mais l'auteur con-

sidère comme tout à fait secondaire l'action de l'oxygène.

N'est-il pas logique cependant d'admettre que l'oxygène étant un aliment pour le champignon comme pour les autres végétaux, l'absence d'oxygène peut être considérée comme un manque de nourriture. C'est ce que M. Van Tieghem laisse entendre quand il parle de l'insuffisance d'oxygène. Ces deux expressions doivent aller ensemble si l'on admet que l'oxygène est un aliment indispensable pour le champignon. C'est la conclusion que je tire de mes différentes expériences sur le *Mortierella polycephala*. Ni la diminution de la transpiration, ni le ralentissement de la respiration du *Mortierella polycephala* ne sont un facteur essentiel de la formation des tubes sporangifères.

Je les ai vus se former le plus souvent quand il y avait manifestement insuffisance de nourriture, par exemple dans des milieux ne contenant que de l'eau et de la gélose, et cela presque à l'exclusion des autres formes fructifères. Mais je les ai vus se former en grande quantité en même temps que les chlamydo-spores aériennes, dans des milieux très nutritifs et dans des cas où l'on ne pouvait invoquer ni l'insuffisance de nourriture, ni l'accélération de la transpiration.

Il est fort probable, que ces causes extérieures doivent agir sur les phénomènes intracellulaires. Ils modifient l'activité du protoplasma, et les actions chimiques encore mal connues, qui se produisent dans son intérieur, doivent apporter des changements considérables dans sa circulation et dans la pression osmotique : c'est là seulement qu'il faut aller chercher les raisons déterminantes de la formation des sporanges et des stylospores, ainsi que de toutes les formes fructifères. Tout ce qui, d'une façon ou d'une autre, pourra modifier la vie intérieure protoplasmique, amènera nécessairement des modifications dans l'appareil fructifère.

Influence de la lumière.

Les auteurs (1) qui ont étudié la biologie des champignons accordent en général une très faible importance à l'action de la lumière. C'est pourquoi dans la bibliographie on ne trouve relativement que peu d'ouvrages traitant de la question. Selon

(1) De Bary [4], Brefeld [8], Klein [3], Sorokine [38], Efving [27 bis], Lendner [25], etc.

les auteurs on peut admettre que la lumière peut ou ne peut pas avoir d'action sur le développement des spores. En règle générale, on admet que la lumière agit pour modifier la longueur des filaments fructifères [25] (p. 7).

Les influences varient suivant les genres, et les auteurs étudiant la même espèce indiquent parfois des résultats différents. Cela tient probablement à ce que les auteurs, ou bien n'ont pas fait de cultures pures, ou bien n'ont pas étudié toujours les mêmes espèces, ou bien n'ont pas attribué d'importance à la nature du milieu nutritif.

Comme les auteurs cités, j'ai étudié l'action de la lumière sur le *Mortierella polycephala*, mais j'ai pu pousser plus loin l'étude des diverses radiations en examinant l'influence que pouvaient avoir sur le champignon des radiations de diverses natures, telles que les radiations de faibles longueurs d'onde, les radiations X, les radiations émises par les corps radioactifs.

Alfred Lendner, dans son travail sur les « *Influences combinées de la lumière et du substratum sur le développement des champignons* », dit que, sur les champignons à conidies, il peut y avoir deux manières d'être » [25] (p. 64) :

1° En cultivant tous ces champignons (*Mucor flavidus*, *Rhizopus nigricans*, *Mucor racemosus*, *Mucor Mucedo*, *Thamnidium elegans*, *Pilobolus*, etc., etc.) derrière les différents verres colorés ou derrière les solutions, sans les éclairer pendant la nuit, on les voit former partout des conidies au bout du même nombre de jours. Les actions du jour et de la nuit se contrecarrent.

2° En lumière continue, l'influence varie suivant les espèces. L'obscurité semble aussi défavorable qu'une trop vive lumière. Ceci a lieu par exemple pour *Sterigmatocystis nigra* et *Botrytis cinerea*. Pour d'autres, tels que *Amblyosporium*, ces différences de conditions lumineuses n'influent en rien sur le développement.

J'ai expérimenté sur le *Mortierella polycephala* pour rechercher l'action des différentes radiations ; j'ai employé la méthode des écrans absorbants. Dans une cuve de verre, de 5 centimètres d'épaisseur, à bords parallèles, j'ai placé la solution absorbante après l'avoir examinée au spectroscope.

J'ai tout d'abord essayé de dégager l'influence que peut avoir sur la croissance du champignon l'alternance d'éclairement qui

provient de la succession du jour et de la nuit, et pour cela j'ai commencé par cultiver le *Martierella polycephala* à l'obscurité complète.

On peut dire d'une façon générale, que dans ces conditions d'absence complète de lumière, la germination se fait plus tardive; la croissance est moins active que dans les conditions ordinaires.

Dans les tubes de Roux, j'ai noté la marche de la croissance en marquant jour par jour le diamètre de la plage que présente le mycélium à la surface du milieu nutritif.

L'ensemencement étant fait dans les conditions ordinaires, à la température de 17° C., le champignon germe au bout de deux jours et demi. Le mycélium se développe lentement, d'abord sous forme de filaments rampants à la surface du milieu nutritif.

Il présente, trois jours après l'ensemencement, un diamètre de 2 millimètres; le quatrième jour le diamètre est à peine de 4 millimètres; le cinquième jour le développement prend une allure un peu plus rapide: à huit heures du soir, le mycélium présente un diamètre de 1 centimètre; vingt-quatre heures après il s'étend jusqu'à 1^{cm},6; à partir de ce moment il gagne les bords du tube et commence à dresser ses filaments en hauteur contre la paroi de verre. Au bout de quinze jours, le mycélium est très peu développé; les filaments sont clairsemés, assez rares; au microscope, on voit les fructifications, qui sont des stylospores très nombreuses, et des sporanges encore en petit nombre.

Dans une boîte de Pétri, le développement semble se faire plus facilement que dans les tubes de Roux. Le substratum est toujours constitué par la gélose peptonisée sucrée. Le développement a lieu à la température de 17°. Dans une dernière série d'expériences, j'ai obtenu les résultats suivants:

La culture est ensemencée le 4 décembre à sept heures du soir. La germination se fait et les filaments se montrent macroscopiquement le 7 au matin. A partir de ce moment, elle est observée régulièrement et je note:

		Diamètre.
7	décembre à 8 h. du soir, le mycél. s'étend sur une surface de...	1 ^c ,0
8	— 8 h.	1 ^c ,9
9	— 8 h.	2 ^c ,8
10	— 8 h.	4 ^c ,2
11	— 8 h.	5 ^c ,3
12	— 8 h.	6 ^c ,5

A partir de ce moment, les filaments se dressent déjà au-dessus du substratum: les fructifications sont abondantes,

les stylospores se montrent très nombreuses; les sporanges commencent à se développer; quelques jours après, les filaments remplissent complètement la boîte de Pétri.

Donc, le développement à l'obscurité complète n'est en somme que retardé par l'absence de lumière; il n'est influencé qu'au moment de la germination. Dans la suite du développement, il ne semble nullement gêné par le manque de lumière.

Cependant le mycélium est un peu plus réduit qu'à l'ordinaire et je n'ai pas observé la formation de zygosporos.

Lumière continue.

J'ai observé le développement de *Mortierella polycephala* en lumière continue.

Les tubes de cultures sont éclairés par une bonne lampe à pétrole; quelques-uns sont placés à une distance de 50 centimètres, les autres sont éclairés par la même source dont les rayons sont concentrés par une forte lentille dans la chambre obscure où ils sont placés à une distance de 1^m,50. La température est observée et se maintient constante pendant toute la durée des expériences; à 50 centimètres, elle est de 22°; à 1^m,50, elle est de 17°. J'ai noté les faits suivants :

Le 18 octobre 1907, les cultures sontensemencées dans la soirée et placées à 22° près de la lampe;

» 19	—	les premiers filaments mycéliens s'observent macroscopiquement;	
» 20	—	le mycélium s'étend sur une surface d'un diamètre de.	1 ^e ,9
» 21	—	à 8 h. du matin	2 ^e ,3
	—	midi.....	2 ^e ,5
	—	10 h. soir	3 ^e ,4
» 22	—	à 8 h. matin.....	3 ^e ,7
	—	midi.....	3 ^e ,7
	—	10 h. soir.....	4 ^e ,6

Les filaments commencent à se dresser dans la partie inférieure du tube, vers le fond; ils sont encore stériles.

» 23	—	à 8 h. du matin, la plage mycélienne s'étend sur.....	4 ^e ,8
	—	4 h. soir.....	5 ^e ,1

L'examen microscopique montre quelques rares chlamydosporos aériennes, lisses; elles n'ont pas encore d'exospore échinulée.

	—	10 h. soir, le diamètre mycélien est de.....	5 ^e ,3
» 24	—	à 8 h. du matin il est de.....	5 ^e ,6
	—	8 h. du soir	5 ^e ,8

Le mycélium atteint le fond du tube, il se développe un peu en hauteur. Au microscope, on voit des chlamydosporos échinulées et d'autres en voie de formation, de différents diamètres; elles sont peu nombreuses relativement à celles qu'on trouve au même moment dans les cultures témoins. On ne voit pas de sporanges.

Le 25 octobre 1907, le mycélium s'est à peine accru en hauteur ; les filaments sont très serrés les uns contre les autres ; les chlamydospores échinulées sont encore peu abondantes ; il n'y a pas de sporanges.

- » 26 — la culture est restée stationnaire.
 » 27 — le mycélium est encore peu développé en hauteur ; les filaments sont abondants, mais très courts, serrés les uns contre les autres en une sorte de feutrage épais.
 » 27 — les fructifications sont représentées par des chlamydospores échinulées et lisses. Il n'y a pas de sporanges.

Dans les tubes qui sont à 1^m,50 de la lampe, la germination a été un peu plus lente ; les tubesensemencés comme les précédents, le 18 octobre à 10 heures du soir, ont germé le 20 au matin.

Le 20 à 10 h. du soir la plage mycélienne s'étendait sur une longueur de	4 ^c ,0
» 21 à 8 h. du matin.....	1 ^c ,2
— midi.....	1 ^c ,5
— 10 h. soir.....	1 ^c ,9
» 22 à 8 h. matin.....	2 ^c ,3
— midi.....	2 ^c ,4
— 8 h. soir.....	2 ^c ,8
» 23 à 8 h. matin les filaments commençaient à se dresser et s'étendaient sur une longueur de.....	3 ^c ,4
— 4 h.....	3 ^c ,7
L'examen microscopique montrait quelques rares chlamydospores échinulées et <i>quelques sporanges</i> .	
— 10 h. soir, la plage mycélienne était de.....	4 ^c ,2
» 24 à 8 h. matin.....	4 ^c ,7
— 8 h. soir.....	5 ^c ,4
Les sporanges se développaient et mûrissaient ; il y avait peu de chlamydospores échinulées ;	
» 25 le mycélium atteignait le fond du tube ; il se développait en hauteur, et ici encore, on pouvait voir nettement les filaments dirigés vers la lumière. Ils se développaient rapidement ;	
» 27 ils remplissaient le tube, s'appuyant contre la paroi de verre opposée au substratum ; la croissance se faisait normalement : on trouvait dans les cultures des chlamydospores échinulées et lisses, des sporanges et des œufs comme à l'ordinaire.	

J'ai refait d'autres expériences, mais cette fois en employant la lumière électrique fournie par une lampe à incandescence de 32 bougies, placée à 20 centimètres des tubes de culture, et fonctionnant nuit et jour dans un cabinet noir. D'autres tubes étaient placés à 1 mètre et d'autres à 3 mètres de la même lampe ; la température était de 20° près de la source lumineuse.

Les culturesensemencées le 23 janvier germent au bout de vingt-quatre heures.

Le 25 janvier, les filaments rampant à la surface du milieu nutritif s'étendent sur une surface de 1 centimètre de diamètre ;

» 26 — la plage mycélienne est de 2^{cm},3 de diamètre.

Puis le développement est un peu plus rapide :

» 27 — les filaments occupent une surface de 3 centimètres de diamètre ;

» 28 — ils occupent tout le tube, soit une longueur de 5 centimètres et demi sur le substratum ; en même temps ils commencent à se dresser ;

» 30 — tout le tube est envahi par un mycélium abondant, mais formé de filaments assez espacés, à l'aspect laineux. Au microscope on voit des filaments irréguliers, remplis de gouttelettes huileuses, presque stériles. Les fructifications, en petit nombre, sont réduites à quelques chlamydospores lisses et échinulées ; il n'y a pas de sporanges.

Les filaments observés quelques jours après ne présentent pas plus de fructifications ; ils sont presque stériles, peu abondants, dressés vers la lumière ; il n'y a que des chlamydospores, pas de sporanges ni d'œufs.

Les cultures placées plus loin ont donné des fructifications normales ; la germination s'est faite un peu plus lentement, mais j'y ai observé des chlamydospores, des sporanges et des œufs.

La courbe suivante résume graphiquement les faits qui précèdent, en ce qui concerne la durée de la germination et l'accroissement du mycélium.

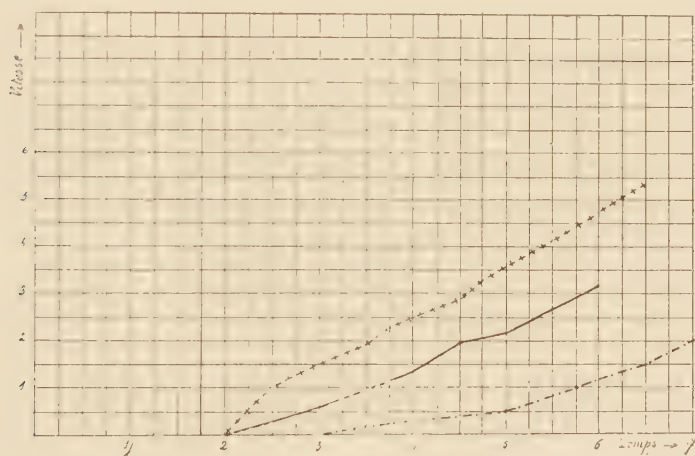


Fig. 42. — Courbes montrant la vitesse d'accroissement du mycélium :

- 1° En lumière alternée (— — — —)
- 2° A l'obscurité complète (— . — . — .)
- 3° En lumière continue (+++++)

On peut donc conclure des faits observés et de la comparaison de ces courbes d'accroissement, que :

1° *Le Mortierella polycephala est sensible à l'action de la lumière.*

En prenant, comme terme de comparaison, le développement en lumière alternée ordinaire (jour et nuit), on peut dire que :

2° *Le Mortierella polycephala germe plus lentement à l'obscurité, qu'il s'y accroît moins vite, mais que les fructifications ne sont pas modifiées ; il produit d'abord des stylospores, puis des sporanges ;*

3° *Le développement à la lumière continue se fait plus vite ; le champignon donne moins de fructifications que dans les conditions ordinaires ; les filaments sont presque stériles, ils ne donnent que des chlamydospores.*

4° En ce qui concerne le développement à la lumière continue, la germination est d'autant plus rapide que l'intensité de lumière est plus grande ; il semble donc que la germination et l'accroissement sont d'autant plus rapides que l'éclairement devient plus fort ; en revanche, les conditions sont alors moins favorables pour le développement de l'appareil fructifère, qui est moins abondant et formé surtout par des stylospores, tandis qu'un éclaircissement continu plus faible favorise l'apparition des sporanges et des œufs.

5° En ce qui concerne les dimensions des filaments et des appareils fructifères, on peut dire que sous ce rapport le champignon est indifférent ; je n'ai pas constaté de différences appréciables entre les chlamydospores, les sporanges et les spores formés soit à l'obscurité, soit à la lumière continue, soit dans les conditions ordinaires.

Action des radiations diverses.

Lendner, dans son étude sur le développement des champignons [25], dit que toutes les Mucorinées étudiées (*Mucor Mucedo*, *Thamnidium elegans*, etc.), développent partout des sporanges sur des milieux solides. Une différence ne se fait sentir que dans la longueur des filaments sporangifères, qui peuvent être du double plus longs dans l'obscurité, la lumière rouge et la lumière jaune. Les sporanges sont très souvent portés sur des pieds ramifiés.

Pour étudier l'action des diverses radiations sur le développement du *Mortierella polycephala*, j'opérais de la façon suivante. Je plaçais les tubes de cultureensemencés dans une chambre noire fabriquée dans ce but et présentant une fenêtre de 14 centimètres de large sur 17 centimètres de long. La chambre elle-même avait les dimensions suivantes : 25 centimètres de hauteur, 15 centimètres de profondeur, 20 centimètres de largeur. Elle était hermétiquement fermée, mais son volume était assez grand pour que dans les diverses expériences, les séries de 4 ou 6 tubes que j'examinais trouvassent dans l'atmosphère de cette chambre la quantité d'air qui leur était nécessaire; du reste, je l'ouvrais régulièrement pour mes observations macroscopiques et microscopiques et l'air se trouvait, par cela même, suffisamment renouvelé dans cette enceinte complètement fermée. La fenêtre était munie intérieurement d'une glissoire dans laquelle on pouvait placer une cuve rectangulaire de 3 centimètres d'épaisseur remplie de la solution absorbante.

Les cultures étaient faites toujours en série double: l'une des séries était soumise à l'action des radiations différentes, l'autre se développait à l'air libre dans les conditions ordinaires. Le milieu employé était toujours la gélose peptonisée glucosée et la température moyenne 17°.

Mes premières expériences ont été faites avec l'eau comme écran absorbant.

On sait que l'eau arrête les radiations infra-rouges et ultraviolettes; beaucoup de matières colorantes se dissolvent dans l'eau et sont employées à l'état de solutions aqueuses comme écrans absorbants. Il était intéressant de voir comment se comportait le *Mortierella polycephala* derrière un écran constitué uniquement par l'eau.

Deux jours après l'ensemencement, on peut observer le mycélium à son début; le développement est le même qu'à la lumière diffuse. Cinq jours après, les filaments commencent à se dresser et à se tourner vers la lumière. Ils ne portent pas encore de fructifications, mais se montrent héliotropiques positivement. Les filaments ont une direction sensiblement horizontale, ils se montrent tous parallèles entre eux comme

un gazon à son début. Si l'on déplace les tubes de culture de façon que les filaments soient tournés vers la paroi obscure de la chambre, on observe, deux ou trois heures après, qu'ils se sont recourbés et dirigés de nouveau vers la lumière.

Les fructifications sont les mêmes que dans les conditions ordinaires.

Action des radiations rouges et infra-rouges.

Comme écran absorbant j'ai employé une solution d'iode dans le sulfure de carbone; la solution examinée au spectroscopie ne laissait passer que l'infra-rouge et le rouge avec un peu d'orangé; elle absorbait toutes les autres radiations, même les radiations ultra-violettes.

Deux séries de culture étaient préparées, les unes que je soumettais à l'action de la lumière diffuse modifiée par l'écran, la fenêtre de la chambre obscure étant tournée vers l'extérieur; les autres, que je soumettais à l'action de la lumière ordinaire.

Dans les cultures témoins, le champignon, ensemené le 19 novembre 1907, a germé très rapidement (au bout de quarante heures), et on a pu, à partir de ce moment, observer à la loupe ou à l'œil nu les phases du développement qui s'est fait régulièrement.

Dans les tubes de culture soumis à l'expérience, il n'en était pas de même. Le 23 on n'observait rien; au bout de quatre jours, les premiers filaments apparaissaient; le 25, le mycélium s'étendait sur une surface de 4 millimètres de diamètre; le 26, la plage mycélienne, s'étendait sur une surface de 4^{cm},2 et les filaments commençaient à se dresser contre les parois du tube. Le développement se faisait alors comme d'habitude et quoique le mycélium fût plus réduit, les fructifications apparaissaient bientôt. C'étaient des stylospores dont le diamètre variait de 15 à 25 et même 30 μ ; et des sporanges renfermant de 18 à 20 spores, de dimensions ordinaires; la dimension des tubes sporangifères n'avait rien de remarquable.

Il faut donc conclure de là que *les radiations calorifiques à elles seules retardent la germination et que les radiations de plus faible longueur d'onde et en particulier les radiations bleues, violettes et ultra-violettes ont une certaine influence dans la germination du Mortierella polycephala*. Sans ces dernières,

la germination se fait plus lentement, comme à l'obscurité.

Il est possible qu'il en soit ainsi, car des cultures faites en lumière modifiée d'autre façon par des absorbants convenables, ne sont que très faiblement influencées.

Action des radiations plus réfrangibles (bleu, violet, ultra-violet).

Lorsque l'écran absorbant est constitué par du sulfate de cuivre ammoniacal qui ne laisse passer que les radiations à partir du bleu, et arrête les radiations calorifiques, en même temps qu'une partie des radiations violettes, on peut remarquer que le *Mortierella polycephala* se développe presque normalement.

Une culture en tube de Rouxensemencée sur gélose le 31 octobre à 9 h. du soir et placée derrière l'écran absorbant m'a donné les résultats suivants :

Le 2 novembre, le soir, le mycélium apparaît.

» 3	—	il s'étend sur une surface de.....	9 ^{mm} de diam.
» 4	—	à 11 h. du matin....	1 ^{cm} ,4 —
» 4	—	à 7 h. du soir.....	1 ^{cm} ,7 —
» 5	—	à 7 h. du soir.....	2 ^{cm} ,8 —

A ce moment les filaments se dressent et ne s'allongent plus vers le fond du tube.

» 9 — c'est-à-dire quatre jours après, les filaments remplissent tout le tube ; mais l'examen microscopique montre qu'ils sont encore stériles ; on y voit quelques rares chlamydo-spores échinulées.

» 10 — on peut apercevoir par places des groupes de filaments plus ou moins renflés qui sont le début des sporanges ; il y a encore peu de chlamydo-spores.

» 11 — onze jours après l'ensemencement, on trouve des sporanges comme dans les cultures ordinaires, mais les tubes sporangifères sont plus minces tout en étant aussi allongés ; les sporanges et les spores n'ont rien de particulier.

Au bout de 20 à 25 jours, les chlamydo-spores sont très nombreuses et de grosseur très inégale ; on en trouve qui ont 25 à 30 μ de diamètre.

Quand l'écran absorbant est constitué par de l'éosine en solution alcoolique, on ne remarque rien de particulier, les cultures se développent comme à la lumière ordinaire.

Le permanganate de potassium, en solution dans l'eau, absorbe les radiations comprises entre les raies D et F.

Les tubes gélosésensemencés le 25 janvier à quatre heures et placés derrière une pareille solution, germent deux jours après ; le 27 janvier à quatre heures on voit apparaître les premiers filaments ; le lendemain matin, le mycélium s'étend sur une surface de 1^{cm},1, le soir sur une étendue de 1^{cm},8 ; le 29, la plage mycélienne est de 2^{cm},2 et les filaments commencent à se dresser vers la lumière ; le lendemain leur étendue est de 3^{cm},5 de diamètre, et le 31 ils

remplissent tout le tube, soit une surface de 4^{cm}1,5. Mais ils sont déjà à ce moment très développés et le mycélium examiné au microscope, présente les fructifications ordinaires : stylospores, sporanges et œufs.

J'ai employé aussi comme écran absorbant une solution de fluorescéine dans l'eau; examinée au spectroscope, elle ne laissait passer que des radiations rouges et orangées, ainsi qu'une partie de radiations violettes; mais d'autre part, c'est une substance fluorescente, et par cela même capable d'augmenter la longueur d'onde des radiations qu'elle reçoit elle-même. Il était intéressant de rechercher si elle aurait une action quelconque sur le développement du *Mortierella polycephala*.

Les tubes de culture ont été ensemencés le 15 janvier à 7 h. du soir.

Le 17, c'est-à-dire deux jours après, la germination a eu lieu, puis les jours suivants j'ai noté l'accroissement de la plage mycélienne.

Le 18, elle avait un diamètre de.....	4 ^e ,2
» 19, —	2 ^e ,2
» 20, —	3 ^e ,7
» 21, —	4 ^e ,8

A ce moment, tout le substratum était couvert d'un fin duvet et le mycélium commençait à se dresser; deux jours après, l'examen microscopique montrait un mycélium abondant avec des chlamydospores dont quelques-unes étaient sessiles; elles étaient peu nombreuses; les tubes sporangifères commençaient à se former, assez nombreux; ils se montraient très allongés, peu renflés; quelques-uns présentaient de petites ramifications bifurquées se terminant chacune par un sporange. J'ai rarement observé cette particularité chez le *Mortierella polycephala*, sauf dans certaines conditions de milieu. Le développement ultérieur ne présente rien de particulier; le mycélium devient très abondant et les fructifications très nombreuses comme lorsque le champignon se développe à la lumière ordinaire.

J'ai cultivé le champignon dans d'autres conditions d'éclairément, modifié par des écrans différents, mais je n'ai pas observé de particularités très intéressantes.

Le tableau suivant résume les observations précédentes (1) :

(1) Les régions du spectre absorbées sont indiquées par des hachures.

ECRAN ABSORBANT	RÉGIONS DU SPECTRE ABSORBÉES PAR LA SOLUTION								OBSERVATIONS
	A	B	C	D	E	F	G	H	
Eau.									Culture ordinaire.
Sulfate de cuivre ammoniacal.									Culture bien développée.
Éosine-alcool.									Id.
Permanganate de potassium.									Id.
Iode dans sulfure de carbone.									Développement plus lent. Fructifications ordinaires.
Fluorescéine.									Culture bien développée. Tubes sporangifères dont les ramifications sont parfois divisées et terminées par des sporanges.

En résumé, on peut donc dire, que le *Mortierella polycephala* se montre en général insensible aux diverses radiations ; si la germination se fait parfois lentement, le champignon fructifie normalement et on ne trouve pas de différences bien tranchées entre ses différentes façons de se comporter. Le début du développement peut être retardé par certaines radiations. Le mycélium peut se développer moins abondamment qu'à la lumière ordinaire, mais, les fructifications sont normales et, sauf dans le cas où l'écran absorbant est la

fluorescéine, présentent les dimensions et les caractères ordinaires.

Le champignon paraît donc plus sensible à l'intensité qu'à la longueur d'onde des radiations lumineuses.

Action des rayons X.

Pour étudier l'action des rayons X sur le développement du *Mortierella polycephala*, j'ai utilisé les cultures en boîte de Pétri, sur milieu gélosé. Les culturesensemencées étaient soumises immédiatement à l'action des rayons de Röntgen obtenus à l'aide d'un courant électrique de 3 ampères passant dans une bobine de Ruhmkorff pouvant donner 15 centimètres d'étincelle. Le ballon dans lequel se produisaient les rayons X était placé à 1 centimètre de la boîte de Pétri et l'action s'exerçait dans mes diverses expériences pendant des temps qui variaient de cinq à vingt minutes.

Si l'action des rayons X est peu prolongée, le développement du *Mortierella polycephala* n'est pas influencé; le champignon germe et se développe normalement. Si l'action se fait sentir pendant cinq minutes, dix minutes et davantage, le développe-

ment est ralenti et je suppose que si j'avais pu prolonger l'action pendant plusieurs heures, le développement eût été empêché. Des raisons d'ordre pratique ne m'ont pas permis de poursuivre l'expérience dans ce dernier cas. Voici par exemple les résultats d'expériences faites sur les cultures en boîtes de Pétriensemencées uniformément avec un peu d'eau distillée contenant des spores.

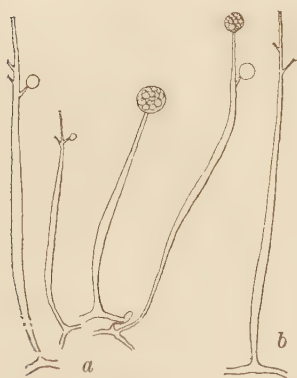


Fig. 43. — Tubes sporangifères développés sur gélose après que les spores ont été soumises à l'action des rayons X; ils sont à peine renflés; gr. 110.

L'une des boîtes de Pétri a été soumise pendant cinq minutes à l'action des rayons X; la germination a eu lieu quatre jours après; le cinquième jour, les filaments mycéliens commencent à apparaître, mais étaient peu développés; ils l'étaient davantage sur les bords; le sixième jour, les filaments se dressaient, ils étaient bien développés, excepté au centre, dans la partie qui avait été plus spécialement soumise à l'action des rayons X; le septième jour

le mycélium était très abondant, mais à peine marqué au centre par un fin duvet. Au microscope, on voyait des filaments très réguliers, des chlamydospores lisses peu nombreuses. Il n'y avait pas encore de sporanges, pas de chlamydospores échinulées. Le huitième jour, le mycélium s'accroissait encore et continuait à fructifier. Il y avait très peu de chlamydospores échinulées; les sporanges commençaient à se développer; quelques-uns étaient déjà mûrs, mais formés à l'extrémité de filaments à peine renflés, si bien qu'on aurait pu les prendre pour des chlamydospores en formation si l'on n'avait pas remarqué *in situ* les sporanges avec leurs spores (Fig. 43).

Dans la culture soumise plus longtemps à l'action des rayons X (pendant vingt minutes), la germination a eu lieu plus tard.

C'est le cinquième jour après l'ensemencement que les premiers filaments apparaissent. Au milieu de la culture il n'y avait rien. L'examen microscopique ne permettait pas de déceler un commencement de germination; sur les bords de la boîte se dressaient les filaments très ténus, assez rares; ils portaient quelques chlamydospores échinulées et des chlamydospores mycéliennes; le sixième jour et les jours suivants, le mycélium se développait très peu et les fructifications étaient peu abondantes.

On peut donc conclure des faits qui précèdent que l'action retardatrice des rayons X sur la germination est nettement marquée; les spores, placées très près du ballon où se produisent les radiations de Röntgen, ne germent pas; celles qui sont situées plus loin germent mal et se développent en conséquence.

Action des corps radio-actifs.

Ces résultats sont en rapport avec ceux que j'avais obtenus en étudiant l'action des corps radio-actifs sur le développement du *Mortierella polycephala*.

Depuis la découverte des corps radio-actifs on a beaucoup étudié les effets des radiations émises, soit sur les végétaux, soit sur les animaux.

M. G. Bohn avait présenté le 27 avril et le 4 mai 1903 deux notes à l'Académie des Sciences, sur « l'influence des rayons du radium sur les œufs vierges et fécondés et sur les premiers stades du développement » [29]. Il montrait que les rayons du radium agissent sur la chromatine du noyau et suivant la durée de l'exposition, augmentent son activité ou la détruisent. Cette note m'a suggéré l'idée de rechercher si les rayons Becquerel avaient une action sur le développement et la croissance des champignons inférieurs et spécialement des Mucorinées que

j'étudiais en ce moment. M. le professeur Curie, en mettant gracieusement à ma disposition un tube de radium, m'a permis de faire dans ce sens quelques recherches que j'ai continuées depuis, grâce à l'obligeance de M^{me} Curie et de son distingué chef des travaux pratiques à la Sorbonne, M. Debieuvre.

J'avais dès le début mis en étude des cultures de *Mucor circinelloides*, de *Thamnidium* et de *Mortierella*. Dans des tubes à essai sur un milieu nutritif (carotte) où d'habitude le développement se fait normalement, il était facile de voir que la croissance du champignon était gênée. Le substratum ensemencé régulièrement sur lequel on plaçait le tube de radium montrait un mycélium très abondant dans les parties les plus éloignées du tube actif. Il paraissait là très vigoureux, plus vivace que dans les tubes témoins, tandis qu'au voisinage du tube lui-même, le mycélium n'apparaissait pas. Dans la région voisine du tube on voyait une surface nue qui contrastait singulièrement avec l'extrémité du substratum où les filaments se montraient si vivaces. Dans les cultures en surface, dans des boîtes de Pétri, on pouvait observer les mêmes faits que dans les cultures en tube.

L'action du radium ne se faisait pas sentir sur les bords de la culture; au contraire les filaments s'y montraient plus développés qu'à l'ordinaire; ils fructifiaient; mais à mesure qu'on s'approchait du centre, là où se trouvait placé le tube actif, les filaments étaient de plus en plus stériles, de plus en plus réduits et au centre même il n'y avait rien.

On n'observait rien de semblable dans une culture où se trouvait placé un tube de verre de même diamètre que celui qui contenait la substance radio-active. Il y avait donc là uniquement un effet dû à la radio-activité et il me paraissait dès lors intéressant de l'étudier de plus près.

Pour réaliser un ensemencement régulier du substratum placé dans des boîtes de Pétri, je prélevais comme d'habitude à l'aide d'un fil de platine des spores d'une culture déjà bien développée et je les transportais aseptiquement dans un tube contenant une petite quantité d'eau distillée stérilisée. Je versais cette eau, tenant en suspension de nombreuses spores, sur le milieu gélosé que j'avais choisi comme milieu de culture. La

faible quantité d'eau que je jetais ainsi ne pouvait nuire au développement que j'examinais par comparaison avec d'autres cultures ensemencées de la même façon et non soumises au radium. L'ensemencement fait de cette manière était très régulier, les filaments poussaient uniformément.

Au milieu de l'une des boîtes de Pétri je plaçais le tube de radium ; au milieu des autres, je plaçais un tube de verre identique pour avoir des cultures témoins dans les mêmes conditions que la première. J'étais assuré que s'il devait y avoir plus tard des phénomènes à observer, le radium en serait la cause déterminante.

Dans une première série d'expériences, j'exposais immédiatement au radium une culture ensemencée le 13 décembre 1903.

Dans la culture témoin, le *Mortierella* se développait normalement et, au bout de cinq à six jours, donnait, en même temps qu'un mycélium touffu, des chlamydospores nombreuses. Le radium fut exposé dans l'autre culture pendant quatre jours ; dès le deuxième jour, le mycélium commença à apparaître à la surface du milieu nutritif et continua à se développer lentement les jours suivants ; mais, dès le début on distingua nettement tout autour du tube de radium une zone aride où rien n'apparaissait ; cette zone s'étendait jusqu'à une ligne bien marquée affectant la forme générale d'une ellipse dont le grand axe était dirigé selon la longueur du tube ; aux deux extrémités du tube la même zone aride était plus réduite et l'ellipse infléchie vers l'intérieur.

La forme particulière de cette zone tient évidemment à ce que le radium constitue lui-même un écran d'absorption pour ses propres radiations, et que les spores situées dans cette région avaient subi l'influence d'une moindre quantité de rayons actifs.

Le petit axe de cette zone aride présentait une longueur d'environ 2 centimètres ; autour de cette zone, on pouvait en remarquer une deuxième, un peu moins nette, où les filaments étaient à peine développés, et enfin au delà, les filaments aériens commençaient à se montrer et le développement se poursuivait normalement quoiqu'il se montrât très réduit comparativement à la culture témoin.

Les préparations faites avec des échantillons pris successivement à 1 centimètre du tube sur le bord de la zone aride, à 1^{cm},5, à 2 centimètres, et à 3 centimètres sur le bord extérieur de la culture, et examinées au microscope, confirmaient bien ce que les premières cultures en tube avaient indiqué. Près du tube, les spores n'avaient pas germé, il n'y avait rien ; un peu plus loin, les filaments étaient misérables, peu abondants mais stériles ; un peu plus loin, les filaments présentaient des chlamydospores échinulées dont le nombre m'avait paru aller en décroissant de la zone aride à la périphérie de la culture. Il n'y avait pas de sporanges ni de spores lisses.

J'ai recherché si les spores de la zone aride, lesquelles n'avaient pas germé pendant les huit jours que dura cette première expérience, étaient tuées, ou bien si elles étaient restées à l'état de vie latente.

J'ai donc à cet effet prélevé aseptiquement en des points de plus en plus éloignés du tube de radium, dans la zone aride, des parcelles de milieu nutritif contenant des spores et je les ai transportées dans des tubes de bouillon gélosé.

Les spores provenant du centre de la préparation n'ont pas germé. Les autres semis ont mis quatre jours à germer, tandis que dans les conditions ordinaires, la germination se produisait dans les autres boîtes au bout de vingt-quatre heures. Peu à peu le mycélium s'est étendu et a couvert toute la surface du milieu nutritif en fructifiant comme à l'ordinaire.

Des résultats identiques ont été obtenus en répétant plusieurs fois ces mêmes expériences ; l'influence de ces radiations, encore mal connues au point de vue biologique et que M. Becquerel, puis M. et M^{me} Curie ont dénommées les radiations α , β , γ , est d'autant plus grande sur le *Mortierella polycephala*, que la substance radio-active agit plus longtemps et à des distances moindres ; elle est nettement paralysante et retardatrice.

Lorsque le *Mortierella polycephala* est cultivé en cellule de Van Tieghem, en présence des corps radio-actifs, les sporangiospores ne résistent pas à l'action paralysante du radium : elles ne germent pas ; mais les chlamydospores germent, plus lentement, il est vrai, et sans fructifier, tant que le radium agit sur le champignon (1).

J'ai voulu voir aussi l'action du radium sur le mycélium déjà développé et, à cet effet, j'ai préparé des cultures de *Mortierella* en cellule de Van Tieghem, dans les mêmes conditions que plus haut ; j'ai observé, heure par heure, le développement d'une spore de *Mortierella* et j'ai pu la comparer à chaque instant à une culture semblable qui me servait de témoin. Au bout de deux jours les filaments mycéliens, peu ramifiés encore, s'étendaient sur une longueur d'environ 1 millimètre. C'est à ce moment que je plaçais le tube de radium dans l'une des cellules et que je le laissais agir pendant deux jours et plus. Pendant ce temps, les filaments de la culture témoin s'enchevêtraient, s'anastomosaient, s'accroissaient de façon à couvrir sur la lamelle une surface d'environ 0^{cm²},5. Au bout de cinq à six jours les stylospores apparaissaient.

En revanche, les filaments soumis à l'action du radium

(1) La dimension de la cellule que j'employais correspondait sensiblement à celles de la zone aride dont je parlais plus haut et il n'y avait rien d'étonnant au fait que les filaments restaient arides. Le tube de radium était placé près de la lame portant le substratum et parallèlement ; il était posé sur un petit support en fil de platine stérilisé par l'incandescence et dans le fond de la cellule se trouvait de l'eau ; sauf la présence du tube de radium, toutes les conditions habituelles de bonne germination étaient réalisées.

cessaient de s'étendre en surface ; ils ne s'allongeaient plus, et ne se ramifiaient presque plus. On observait dès les premières heures que la présence du radium apportait un trouble profond dans la vie du champignon ; la circulation protoplasmique, qui se faisait très régulièrement auparavant, devenait très irrégu-



Fig. 44. — Influence du radium. — *a*, Aspect du filament avant l'action du radium, gr. = 110 (filament de deux jours) ; *b*, Aspect du filament après l'action du radium prolongée pendant vingt-quatre heures, gr. 160 ; *o'*, Filament modifié sous l'action du radium, une portion a été dessinée en *c*, *d*, *e*, à un plus fort grossissement, gr. 670 ; *d*, Filament ayant éclaté sous la pression interne et ayant reformé une membrane à l'extrémité ; *f*, *g*, *h*, *i*, Kystes formés sur les filaments dont on remarque l'irrégularité ; *j*, Filament ordinaire de *Mortierella*.

lière ; elle se faisait comme par saccades ; les filaments acquerraient par places un diamètre double ou triple de celui des filaments témoins. En certains endroits, ils présentaient des renflements caractéristiques à l'intérieur desquels le protoplasme se contractait ; les filaments se cloisonnaient ; en un mot, le *Mortierella* s'enkystait sous l'action du radium. En

d'autres points du mycélium peu développé, il arrivait souvent que la membrane se résorbait ou cédait sous la pression intérieure et le protoplasma se répandait au dehors sous la forme d'une multitude de fines gouttelettes huileuses, tandis qu'une nouvelle membrane se reformait très rapidement. La présence du radium accélérât l'apparition à l'intérieur des filaments, de cette structure trabéculaire avec gouttelettes huileuses que présentent les vieux filaments (Fig. 44).

Lorsque l'action du radium n'était pas trop prolongée, le mycélium recommençait à croître et des bourgeons nouveaux apparaissaient.

Il ressort donc de ces expériences plusieurs fois répétées, que :

1° Les rayons du radium arrêtent la croissance du mycélium du *Mortierella* et empêchent la germination de la spore ; cette action est du reste simplement paralysante ;

2° Ils provoquent l'apparition de véritables kystes à l'intérieur des filaments ; ces kystes sont évidemment ici des organes de défense du végétal ;

3° Les spores et le mycélium soumis à l'action du radium ne sont pas tués ; ils sont à l'état de vie latente et, replacés dans des conditions normales, peuvent germer ou continuer à se développer à nouveau.

Dans le courant de 1906 et en 1907 j'ai poursuivi ces études.

J'ai recherché l'action que pouvait avoir sur la croissance du *Mortierella polycephala*, non plus les corps radio-actifs, cristallisés, mais l'air maintenu en contact avec une dissolution de ces corps, c'est-à-dire l'émanation.

J'aiensemencé régulièrement des ballons Pasteur et immédiatement après j'ai fait le vide à leur intérieur ; puis j'y ai laissé rentrer de l'air qui était resté en contact pendant plusieurs semaines avec une dissolution de chlorure de radium renfermant 3 à 4 milligrammes de substance active. Les cultures de *Mortierella polycephala*, de *Sporodinia grandis*, de *Thamnidium* ne se développaient pas, tandis que les cultures témoins germaient au bout de deux jours dans l'air ordinaire.

Or, en ce qui concerne *Mortierella polycephala*, j'ai pu cons-

later que la résistance des spores et des stylospores est très grande vis-à-vis des conditions extérieures atmosphériques; j'ai ensemencé des milieux gélosés dans des ballons Pasteur où je remplaçais l'air ordinaire par d'autres gaz tels que l'oxygène pur, l'oxygène ozonisé, le gaz carbonique, etc.; dans tous les cas, le champignon se développait très bien, et fructifiait normalement; je l'ai cultivé dans des atmosphères viciées par des vapeurs d'éther, de chloroforme, de sulfure de carbone, et le champignon s'est toujours bien développé. Il présente donc une résistance extraordinaire à ces agents extérieurs et il semble que l'action nocive de l'émanation ne puisse être mise en doute, car dans les cultures précédentes, même au bout de trois mois, je n'ai rien obtenu; or l'émanation ne conserve guère ses propriétés actives pendant plus de huit jours. J'ai retrouvé là les mêmes résultats, plus accentués, que j'avais déjà constatés avec le chlorure du radium lui-même.

J'ai essayé l'action de l'émanation sur des cultures en voie de développement. J'ensemenciais un ballon Pasteur et je l'abandonnais à la température moyenne de 10° pendant huit jours; le champignon se développait lentement; au bout de ce temps les filaments étaient à peine dressés dans l'air, même dans la région voisine des parois du ballon; il y avait encore peu de fructifications: au microscope, on voyait quelques chlamydospores lisses et des stylospores; pas de sporanges. Je faisais le vide et je remplissais le ballon d'émanation provenant d'une solution contenant 1 milligramme de chlorure de radium; l'air rempli d'émanation avait séjourné dans le flacon à solution active pendant six mois. Dès que l'émanation était introduite, on voyait les filaments s'affaïsser sur eux-mêmes et à partir de ce moment le développement était complètement arrêté.

Huit jours après, j'ai recommencé la même expérience avec une émanation un peu moins forte; l'air chargé d'émanation n'avait séjourné que huit jours en présence de la solution à 1 milligramme de chlorure de radium. Le champignon ensemencé s'était développé plus rapidement à la température de 18°, à l'étuve, et le mycélium, au bout de huit jours, était déjà bien dressé et commençait à fructifier. Dès que l'émanation fut introduite dans le ballon, les filaments cessèrent

de s'accroître, et la culture resta pendant plusieurs semaines dans un état stationnaire. L'examen microscopique montra au bout de quelques jours un mycélium vieux, des filaments remplis de gouttelettes huileuses; par places le protoplasma s'était condensé et des kystes s'étaient formés.

On retrouve les mêmes résultats, plus énergiques, déjà obtenus avec le chlorure de radium. Les expériences plusieurs fois répétées se montrent concordantes. Si l'on transplante alors des spores qui ont subi l'action de l'émanation, sur un autre substratum, on constate qu'elles peuvent germer, mais plus lentement que les spores ordinaires; sur gélose, j'ai obtenu la germination de pareilles spores au bout de quatre jours.

On peut donc, en résumé, conclure de ce qui précède que l'action des corps radio-actifs est toujours nuisible pour le *Mortierella polycephala*; elle l'est d'autant plus que les spores ou le mycélium y sont exposés plus longtemps; l'émanation est plus nocive que le chlorure de radium lui-même, elle arrête immédiatement la croissance du mycélium, provoque son enkystement, et elle peut empêcher la germination des spores ou des chlamydo-spores si elle est suffisamment concentrée.

Influence de l'état hygrométrique.

J'ai cherché à réaliser des conditions d'humidité diverses en faisant varier l'état hygrométrique de l'atmosphère dans laquelle se développaient mes cultures pures.

Le dispositif que j'ai adopté est le suivant : les tubes de culture étaient mis sous une cloche dont les bords usés à l'émeri reposaient sur un plateau de verre; le contact plus parfait était obtenu au moyen de suif qui empêchait toute entrée d'air venant de l'extérieur. La partie supérieure de la cloche était munie d'une tubulure fermée par un bouchon de caoutchouc percé de deux trous par lesquels passaient deux tubes de verre, l'un descendant jusqu'au fond de la cloche, l'autre, débouchant vers la partie supérieure. Ce dernier communiquait avec un flacon à deux tubulures contenant de l'acide sulfurique concentré. L'autre tube était en communication avec la trompe

à eau. L'air aspiré se desséchait par son passage à travers l'acide sulfurique et au bout de trois ou quatre heures l'atmosphère de la cloche était plus ou moins complètement débarrassée de vapeur d'eau. On pouvait le constater à l'aide de l'hygromètre à cheveu placé à l'intérieur de la cloche; des robinets disposés sur le trajet des tubes permettaient d'arrêter à volonté le courant d'air et de régler ainsi l'état hygrométrique.

Dans une atmosphère complètement desséchée, je n'ai pas observé la germination des spores de *Mortierella polycephala*. J'ai pu maintenir l'air de la cloche dans le même état pendant quinze jours sans observer les moindres traces de germination.

Dans une atmosphère légèrement humide, l'hygromètre marquant 50°, soit dans une atmosphère à demi saturée de vapeur d'eau, la germination a eu lieu, et elle a donné au bout de trois jours un mycélium bien développé avec fructification normale, sporanges, stylospores.

Dans une atmosphère saturée de vapeur d'eau, pourvu que la vapeur en se condensant ne recouvrit pas complètement le milieu nutritif, la germination a eu lieu au bout de deux jours; le mycélium s'étendait d'abord à la surface du substratum, puis, quand il était arrivé aux limites du tube, s'appliquait contre la paroi, s'élevait dans l'air et commençait à fructifier. Rarement les stylospores apparaissaient avant ce moment.

J'ai essayé les mêmes cultures en cellule de Van Tieghem. Dans le fond de la cellule, je plaçais quelques gouttes d'acide sulfurique et j'observais le développement jour par jour. Le milieu nutritif était une goutte de gélose peptonisée et sucrée, disposée sur la lamelle; l'ensemencement était toujours fait aseptiquement dans deux cultures dont l'une servait de témoin. Au bout de vingt-quatre heures, on pouvait observer la germination des spores dans la culture témoin et au bout de huit jours, on y voyait apparaître des stylospores, alors que dans la cellule à acide sulfurique rien ne se produisait; au bout de quinze à vingt jours, la germination ne se produisant pas, j'interrompais l'expérience.

Il faut donc conclure de là que dans un air complètement et rapidement desséché, la germination des spores du *Mortierella polycephala* ne peut pas se faire.

D'autre part, une atmosphère complètement saturée, sans empêcher la germination, gêne la croissance du champignon, qui s'accroît moins que dans l'atmosphère ordinaire des tubes de culture. Les gouttelettes d'eau résultant de la condensation de la vapeur d'eau dans l'atmosphère saturée tombent sur le mycélium et agissent probablement par leur poids pour en empêcher l'accroissement en hauteur et aussi en surface. J'ai observé généralement que l'optimum d'humidité est atteint lorsque l'hygromètre marque 93, c'est-à-dire un point très voisin de la saturation.

Il peut y avoir dans ce résultat une contradiction apparente avec ce qui se passe lorsqu'on fait la culture en chambre humide de Van Tieghem, où l'atmosphère est nécessairement saturée de vapeur d'eau. Mais la disposition prise dans ces cultures est telle que l'eau de condensation se dépose dans le fond de la chambre et sur la lamelle, et que de toute façon le mycélium dressé se développe sans être gêné. Du reste, je n'ai jamais obtenu dans les cultures sur milieu solide recouvert d'une légère couche d'eau qu'une germination très lente et un mycélium très misérable. La vapeur d'eau saturante est un bienfait pour le champignon, l'eau de condensation lui est nuisible.

J'ai expérimenté aussi avec des milieux humides obtenus à la manière de Klebs, qui consiste à recouvrir de collodion ces milieux de culture : je les ensemçais en piquant la couche solide formée après évaporation de l'éther et je constatais que dans l'air sec malgré l'humidité du milieu nutritif, la germination ne se faisait pas.

C'est donc bien l'humidité de l'air et non pas seulement l'humidité du substratum qui joue un rôle important dans le développement du champignon.

En résumé, le *Mortierella polycephala* ne se développe et ne fructifie normalement que dans une atmosphère saturée de vapeur d'eau ; l'humidité de l'air a plus d'importance pour la germination des spores que l'humidité du substratum, quoique cette dernière ait aussi une certaine influence.

Influence de la pression atmosphérique.

On sait que les appareils conidiens (les stylospores) ne se forment généralement que dans l'air et jamais à l'intérieur du liquide, et l'opinion générale est que pour leur formation le mycélium a besoin d'oxygène et qu'il ne peut les produire dans un milieu où manque cet élément. S'il en est ainsi, tout champignon, ensemené dans un milieu quelconque, en présence d'une atmosphère où l'oxygène sera raréfié, devra présenter, sinon une modification de la forme de ses conidies, tout au moins des variations dans leur formation, leurs dimensions, et dans l'aspect du mycélium sur lequel elles prennent naissance.

Klebs (23) trouve que pour l'*Eurotium repens*, la pression minima inférieure à laquelle se forment les conidies est de 3 ou 4 millimètres : à cette pression, il admet que l'atmosphère ne contient guère plus de 0,14 p. 100 d'oxygène ou même moins, mais il n'attribue pas à la faible proportion d'oxygène la cause du retard dans la formation du mycélium et des conidies. D'autres circonstances, d'après lui, doivent agir d'une manière décisive.

Pour étudier l'influence de la pression sur la croissance du *Mortierella polycephala*, j'opère de la façon suivante : Dans un ballon Pasteur rempli de gélose sucrée, je fais l'ensemencement en touchant la partie centrale du mycélium et je mets le récipient ainsi préparé en communication avec la trompe à eau. Très rapidement le vide se fait à 1 ou 2 millimètres. Le ballon est alors séparé de l'air extérieur au moyen d'un caoutchouc à vide et d'une vis de pression, abandonné à la température du laboratoire, soit 17°, et examiné régulièrement. J'ai observé ainsi des cultures faites à 1 millimètre de pression, à 95 millimètres, à 150 et à la pression ordinaire.

J'ai opéré aussi à des pressions plus considérables : dans un ballon Pasteur, je comprimais de l'air à 1^{atm},5, à 2^{atm} et à 2^{atm},5, après l'avoir ensemené.

Dans le vide de la trompe, des ballons Pasteur avec gélose sucrée ont été ensemenés le 26 janvier à midi. Les premiers jours, on n'observait rien de particulier : le 31, un léger mycélium apparaissait ; il s'étendait d'abord assez rapidement et atteignait au

bout de quarante-huit heures une surface dont le diamètre était de 1 centimètre. A partir de ce moment, le thalle ne s'étendait plus en largeur ; il se dressait vers le haut, très peu, et cela pendant les trois premiers jours à partir de l'apparition du mycélium. Quinze jours après, la culture ne présentait pas de différence avec ce qu'elle était aux premiers jours du développement, et le mycélium, examiné à ce moment, montrait que les filaments étaient restés presque stériles ; ils portaient bien quelques chlamydospores aériennes, mais en très petit nombre ; les chlamydospores mycéliennes prédominaient avec quelques œufs, assez rares. On ne voyait pas de sporanges.

Dans d'autres séries de cultures, j'ai obtenu, dans le vide, des filaments présentant une absence presque complète des appareils reproducteurs qui n'étaient figurés que par quelques kystes et quelques zygosporos.

A la pression de 95 millimètres, les premiers filaments ont apparu trois jours après l'ensemencement et quatre jours après recouvraient tout le substratum ; soit une surface de 4^{cm},5 de diamètre. Le mycélium, au bout de quinze jours, était à peine dressé ; les filaments étaient plus réduits qu'à l'ordinaire ; ils étaient presque stériles et on n'y rencontrait que quelques chlamydospores lisses et échinulées de diamètre très variable, mais assez rares.

A une pression de 150 millimètres, la croissance se faisait sensiblement de la même façon ; les fructifications étaient uniquement des chlamydospores, d'ailleurs en petit nombre.

A 250 millimètres j'ai pu obtenir des sporanges, mais ils ne se formaient bien et en grande abondance que lorsque la pression était voisine de la pression atmosphérique ou s'élevait au-dessus.

A la pression ordinaire le développement est normal et présente au bout de cinq à six jours un mycélium abondant dans lequel on trouve de nombreuses chlamydospores échinulées, des sporanges et des zygosporos.

J'ai observé que plus la pression augmentait, plus la croissance du mycélium se faisait mal. Les fructifications se produisaient cependant ; elles étaient représentées par des chlamydospores et des sporanges. Il y avait une très grande différence

dans la durée de la germination. Les filaments se montraient comme un fin duvet autour du point ensemené, et apparaissaient au même moment dans le ballon témoin et dans les ballons où la pression avait été portée respectivement à $1^{\text{atm}},5$ à 2^{atm} et à $2^{\text{atm}},5$. Mais on remarquait de suite une différence dans la vitesse d'accroissement du mycélium.

J'ai noté les différences suivantes.

a. Culture témoin. Trois jours après l'ensemencement, la plage mycélienne présentait une surface de $2^{\text{cm}},5$ de diamètre ; le jour suivant elle était de 3 centimètres ; le lendemain à la même heure, elle était de 4 centimètres, et à partir de ce moment, les filaments, ayant atteint les bords du ballon, se redressaient abondamment vers le haut et commençaient à fructifier partout.

b. Culture à $1,5$ atmosphère.

La durée de germination a été la même, mais au bout de trois jours, la plage mycélienne s'étendait seulement sur $1^{\text{cm}},5$ de diamètre ; vingt-quatre heures après elle était de $1^{\text{cm}},9$; le lendemain de $2^{\text{cm}},5$, puis de $3^{\text{cm}},2$ et enfin, un peu après, de 4 centimètres et les filaments commençaient à se dresser, mais seulement sur les parois de verre ; le mycélium restait peu abondant au centre du substratum et il en était ainsi les jours suivants ; les fructifications étaient des stylospores et des sporanges. Les filaments mycéliens ne se développaient plus et prenaient l'aspect de vieux filaments, riches en gouttelettes huileuses, présentant par places quelques cloisons.

c. A 2 atmosphères, la culture s'est comportée à peu près de même, sauf au début où la croissance a été plus lente.

d. A $2,5$ atmosphères, l'effet a été plus sensible sur la croissance du mycélium qui n'a atteint le bord du ballon que le sixième jour après l'apparition des premiers filaments ; le thalle est resté toujours très misérable, rampant à la surface du milieu nutritif, sauf sur les bords où il s'est un peu dressé sur les parois et où il a formé quelques sporanges.

Le tableau suivant (page 94) résume d'un façon plus nette les remarques précédentes.

Il semble donc d'une façon générale que la germination de *Mortierella polycephala* n'est pas empêchée par les variations extérieures de la pression, même lorsque ces variations s'étendent sur une assez grande échelle. Dans le vide de la trompe, la germination se fait tout aussi bien que sous une pression voisine de 3 atmosphères ; la durée de la germination est plus lente sous la pression de quelques millimètres obtenue avec la trompe ; en revanche, la croissance du champignon se fait très mal ; il ne s'étend ni en surface, ni en profondeur, il ne fructifie pas.

Des pressions supérieures à la pression atmosphérique gênent la croissance du mycélium, sans l'empêcher ; et si ce dernier est moins abondant qu'à la pression normale, il peut

Durée de germination et vitesse d'accroissement du mycélium à des pressions variables.

DATES	VIDE	95 MILLIM.	150 MILLIM.	4 ATMOSP.	4 ATM. 5	2 ATMOSP.	2 ATM. 5
26 janvier.....	<i>Ensemencement de toutes les cultures.</i>						
28 —	»	»	»	Apparît. des premiers filaments.	»	»	»
29 —	»	Apparît. des premiers filaments.	Apparît. des premiers filaments.	Plage de 4 ^e , 5	Apparît. des premiers filaments.	Apparît. des premiers filaments.	Apparît. des premiers filaments.
30 —	»	»	»	— de 3 ^e , 0	Plage de 1 ^e , 5	Plage de 0 ^e , 8	Plage de 0 ^e , 8
31 —	»	»	»	— de 4 ^e , 0	— de 1 ^e , 3	— de 1 ^e , 0	— de 1 ^e , 0
1 ^{er} février.....	Apparît. des premiers filaments.	Plage de 4 ^e m, 5 de diamètre.	Plage de 4 cent.	Le mycélium atteint les bords du ballon, se dresse et fructifie abondamment ; chlamydosporos, sporanges, œufs.	— de 3 ^e , 2	— de 1 ^e , 8	— de 1 ^e , 8
2 —	»	Filaments peu abondants, à peine dressés.	Mycélium peu abondant ; stylospores, quelques sporanges en petit nombre.	—	— de 1 ^e , 0	— de 3 ^e , 5	— de 2 ^e , 5
3 —	»	stylospores très abondantes ; pas de sporanges ni d'œufs.	—	—	— de 1 ^e , 0	— de 4 ^e , 0	— de 3 ^e , 2
4 —	Plage de 4 cent.	—	—	—	—	—	— de 4 ^e , 0
5 —	Mycélium faiblement développé.	—	—	—	—	—	—
6 —	Stérile.	—	—	—	—	—	—
7 —	Ne s'accroît plus.	—	—	—	—	—	—

cependant fructifier et donner des sporanges. Ces sporanges peuvent même présenter parfois de petites branches ramifiées, ce que je n'ai observé, chez le *Mortierella polycephala*, que lorsque le champignon poussait dans de mauvaises conditions.

Puisque l'augmentation de pression qui s'exerce à la surface du milieu nutritif n'empêche pas le mycélium de se former, ni les sporanges et les chlamydospores de prendre naissance, on peut supposer que la pression interne protoplasmique est assez considérable; elle s'augmente encore probablement par ce fait que les échanges osmotiques entre le mycélium et le milieu nutritif sont plus actifs. En outre, le mycélium trouve dans l'atmosphère sous pression l'oxygène nécessaire à son existence et cela suffit pour qu'il puisse s'accroître. C'est très probablement au manque d'oxygène qu'il faut attribuer le faible développement du mycélium dans le vide.

Je n'ai pas cherché à diminuer la pression au delà des limites données par la trompe, car l'eau du substratum s'évapore d'autant plus rapidement qu'on s'approche du vide et dans ces conditions on pourrait être tenté d'attribuer à l'absence d'oxygène des résultats qui peut-être seraient dus, pour une grande part, à la faible teneur en eau du milieu nutritif.

Influence du milieu nutritif.

Dans l'étude biologique du *Mortierella polycephala* on peut faire presque complètement abstraction de la nature de l'atmosphère dans laquelle le développement va s'effectuer. J'ai observé, en effet, que si les conditions d'humidité de l'atmosphère, de température et de pression sont satisfaisantes, le champignon croît normalement, quelle que soit la nature des gaz qui l'environnent. Ce qui importe davantage pour l'existence de *Mortierella polycephala* et pour sa multiplication sexuée ou asexuée, c'est la nourriture qui lui est offerte et qu'il va trouver dans le substratum sur lequel sera fait l'ensemencement.

C'est l'avis de presque tous les physiologistes. Van Tieghem, Klebs, Brefeld, etc., et si tous ne sont pas d'accord pour lui attribuer la première place dans les facteurs de l'évolution de

l'organisme, aucun ne met en doute que le milieu nutritif n'ait un rôle important au point de vue de la croissance et de la formation de l'appareil reproducteur. C'est pourquoi j'ai étudié l'influence que peut exercer le milieu nutritif sur la germination, la croissance et la formation des organes reproducteurs du *Mortierella polycephala*.

J'exposerai d'abord l'influence des milieux naturels, liquides ou solides ; puis, dans le même ordre, l'influence des milieux artificiels, et enfin l'influence de la nature spéciale du milieu nutritif.

Il faut d'abord remarquer d'une façon générale que le *Mortierella polycephala* ne se développe bien et ne produit de fructifications abondantes que lorsqu'il est semé sur un substratum humide et que dans l'atmosphère qui l'entoure, il trouve des conditions d'humidité favorable. Ces deux conditions doivent être réunies, une seule ne suffit pas. Si le milieu est desséché et placé dans une atmosphère humide, le champignon pousse mal ou pas du tout. Si le milieu est humide et l'atmosphère desséchée, la croissance n'a pas lieu.

MILIEUX NUTRITIFS NATURELS.

1° *Milieux liquides*. — Dans les milieux naturels liquides, le développement de *Mortierella polycephala* se fait mal en général ; j'ai pu le cultiver sur de la décoction de fumier, sur du jus de carottes, en cellule de Van Tieghem, mais je n'ai jamais obtenu, en cellule, que des chlamydospores échinulées. Le champignon n'a poussé ni dans l'eau pure, ni dans le jus d'orange, ni dans le liquide Raulin ; dans le jus de pruneaux, j'ai obtenu un maigre développement du mycélium avec peu de chlamydospores.

2° *Milieux solides*. — J'ai expérimenté les milieux suivants : crottin de cheval, pomme de terre, carotte, pain sec, pain humide.

Sur le fumier de cheval, le développement est normal, mais je n'y ai pas observé de zygospores. Il en est de même sur des carottes, que la culture soit faite en boîte de Pétri ou dans des tubes de Roux. Sur les pommes de terre, le développement est

plus lent à se faire que sur les carottes, et les filaments produits restent plus longtemps stériles, mais au bout d'une dizaine de jours les fructifications sont très abondantes; on y voit surtout des sporanges et des chlamydospores échinulées; le mycélium finit par devenir aussi abondant que sur la carotte.

Sur le pain sec (du pain ordinaire soumis à la stérilisation à 120° pendant un quart d'heure à l'autoclave), le mycélium est très peu développé; il est répandu comme une légère toile d'araignée à la surface du pain; les fructifications sont réduites à des chlamydospores échinulées, en très petit nombre.

Sur du pain stérilisé, humecté d'eau de façon à former presque une bouillie compacte, le développement est régulier. Le mycélium se développe parfaitement, aussi bien que sur les carottes; les chlamydospores sont nombreuses; on voit quelques sporanges assez rares. L'action de l'eau est manifeste et le pain humide est un milieu qui convient parfaitement à la formation des chlamydospores.

Ces différentes substances, l'eau mise à part, constituent des milieux favorables à des degrés très divers, mais qui ne peuvent guère nous renseigner sur les effets spéciaux qu'ils produisent. Leur composition chimique est très complexe et discutable. Nous sommes peu renseignés, malgré les progrès de la chimie moderne, sur la nature exacte du fumier et autres milieux semblables et il m'a semblé préférable d'étudier l'action des milieux artificiels.

MILIEUX NUTRITIFS ARTIFICIELS.

J'ai déjà dit que les milieux liquides, tels que le liquide Raulin, le liquide Van Tieghem ne m'avaient donné aucun résultat avec le *Mortierella polycephala*.

J'ai fabriqué de toutes pièces des milieux solides dans lesquels dominait soit la gélatine, soit la gélose.

Gélatine et eau.

Un pareil milieu est peu propice à la croissance du *Mortierella polycephala*. Le mycélium apparaît trois jours après l'ensemencement. Il est extrêmement réduit, peu apparent, et se développe lentement sans se dresser. Le développement se fait

tout aussi bien vers l'extérieur que vers l'intérieur de la gélatine qui se liquéfie, quoique la température soit seulement de 18°. Au bout de quelques jours le mycélium forme un feutrage de 1 ou 2 millimètres d'épaisseur à la surface de la gélatine liquéfiée et on trouve comme fructifications des chlamydospores échinulées et lisses. Les sporanges s'y rencontrent, mais en petit nombre.

Gélose et eau.

C'est un milieu très peu favorable à la croissance du mycélium. Celui-ci apparaît trois jours après l'ensemencement, et, à



Fig. 45. — Aspects divers de l'extrémité des tubes sporangifères dans des cultures sur gélose et eau (c, e) et dans des milieux gélosés concentrés (a, b). Les branches secondaires sont nombreuses; elles sont ramifiées; d, une ramification (gr. = 650).

partir de ce moment, s'étend à la surface du substratum sans se dresser. Il est très réduit et s'étend en formant un réseau à

mailles très larges qu'on peut observer à l'œil nu ou à la loupe. Quinze jours après, le mycélium n'est pas plus développé, et par places on voit se dresser de petites branches terminées par de petits renflements blanchâtres. Au microscopie, on reconnaît des tubes sporangifères très renflés et qui, dans la partie terminale, montrent de nombreuses ramifications terminées chacune par un sporange. Parfois, ils présentent des ramifications de second ordre qui pourraient faire prendre le champignon pour *Mortierella Van Tieghemii*, de Bachmann. Il est évident que la gélose doit être un milieu très peu nutritif et dans ce cas la formation des sporanges et de leurs ramifications pourrait trouver sa raison d'être, comme le dit M. Van Tieghem, dans le défaut de nourriture. Quelle qu'en soit la cause, les sporanges sont ici très abondants ; les chlamydospores le sont beaucoup moins, et ce sont surtout des chlamydospores lisses.

Gélose, peptone et eau.

La peptone peut être considérée comme un bon aliment pour le *Mortierella polycephala*. La germination se fait normalement, les premiers filaments commencent à apparaître au bout de deux jours, comme un léger duvet dans les tubes de culture ; mais les fructifications qui apparaissent dès le soir même et les jours suivants sont uniquement représentées par des chlamydospores échinulées et lisses ; les sporanges manquent ; le mycélium est peu développé par rapport à celui qui apparaît dans les milieux à gélose sucrée.

Milieux gélosés sucrés.

Il est évident, d'après ce qui précède, que l'absence d'éléments hydrocarbonés retentit d'une façon certaine sur le développement du mycélium et sur la forme de l'appareil fructifère.

Dans quelle mesure la nature de l'hydrate de carbone et sa concentration peuvent-elles influencer le développement ?

Dans les milieux gélosés glucosés que j'employais d'habitude dans mes recherches, j'observais une croissance très abondante du mycélium ; les formes fructifères étaient, dès les premiers jours, représentées par des chlamydospores lisses et échinulées et des sporanges ; au bout de quelques jours, la nourriture

devenant moins abondante, on voyait apparaître des zygospores.

Je me suis tout d'abord préoccupé de rechercher l'influence de la concentration sur la croissance du mycélium. J'ai opéré de deux façons différentes :

1° En diminuant simplement la teneur en eau du substratum :

2° En augmentant la proportion de substance nutritive représentée ici par le glucose.

Dans les deux cas on obtient des résultats très différents.

Je préparais par exemple des tubes de gélose peptonisée sucrée de la manière suivante. L'une des séries de tubes de culture contenait :

Gélose.....	8 grammes.
Peptone.....	3 ^{gr} ,5
Glucose.....	18 ^{gr} ,5
Eau.....	500 grammes.

L'autre contenait identiquement les mêmes substances, et ne différait que par la teneur en eau qui était, suivant les cas, 400 grammes, 300 grammes, 200 grammes, 100 grammes.

Dans les premiers tubes, la germination avait lieu au bout d'une trentaine d'heures et, à ce point de vue, on ne constatait pas de grandes différences dans les divers cas d'expérience. Au bout de quatre à cinq jours, les filaments s'étendaient à la surface du substratum et commençaient à se dresser et à fructifier. Dans les tubes qui contenaient 500 grammes, 400 grammes, 300 grammes d'eau pour la même quantité de nourriture, les formes reproductrices étaient figurées par des chlamydospores et des sporanges ; mais dans les tubes qui contenaient 100 grammes d'eau, on observait au bout du même temps que les appareils fructifères étaient représentés presque uniquement par des tubes sporangifères très nombreux, présentant de nombreuses ramifications terminales ayant à leur extrémité des sporanges arrondis : on en voyait qui étaient déjà mûrs, dont la déhiscence s'était déjà produite ; on en voyait d'autres en formation.

Il me paraît évident qu'il y a une relation de cause à effet dans la faible teneur en eau du milieu nutritif et la formation du sporange. Il me semble que la diminution de l'eau dans le substratum augmente la valeur de la pression osmotique à

l'intérieur des filaments; les tubes sporangifères prennent naissance beaucoup plus rapidement que d'habitude; ils se ramifient plus que dans les conditions ordinaires.

On ne s'expliquerait pas autrement que pour une nourriture identique, il y eût une pareille différence dans la forme de l'appareil reproducteur.

Le même résultat s'observe quand on augmente la proportion en sucre du substratum, en laissant identique la proportion d'eau et des autres substances.

J'ai préparé des milieux de culture contenant :

Gélose.....	8 grammes.
Peptone.....	3 ^{gr} ,5
Eau... ..	500 grammes.

et des proportions variables de glucose : 20 p. 100, 30 p. 100, 40 p. 100, 50 p. 100, 60 p. 100, 70 p. 100 et 80 p. 100, par rapport aux autres éléments.

Dans les cultures qui contenaient de 20 à 50 p. 100 de glucose, le développement a pu se faire à peu près normalement; le mycélium était cependant moins abondant lorsque la proportion de glucose augmentait; les fructifications étaient des stylospores et des sporanges; il n'y avait pas d'œufs. Dans la culture à 60 p. 100 de glucose, la prédominance des sporanges était très marquée dès le début et ces tubes sporangifères présentaient jusqu'à sept à huit petites ramifications latérales disposées irrégulièrement dans le voisinage de l'extrémité (fig. 45).

On constatait des différences dans le temps d'apparition des premiers filaments; les cultures à 20 p. 100 de glucose germaient au bout de vingt-quatre heures; celles à 30 p. 100 au bout de trente-six heures; celles de 50 et 60 p. 100, au bout de trois jours.

Dans les cultures contenant 70 et 80 p. 100 de glucose, je n'ai obtenu aucune germination.

Action des différents hydrates de carbone.

Parmi les hydrates de carbone étudiés, je citerai en première ligne les sucres : glucose, lévulose, galactose, lactose, maltose et saccharose (1).

(1) Le milieu utilisé dans ces expériences renfermait 8 grammes de gélose, 3^{gr},5 de peptone, 500 grammes d'eau et 48^{gr},5 de l'un des hydrates de carbone cités.

Le *glucose* est un excellent milieu nutritif pour toutes les Mucorinées; c'est celui que j'ai employé dans toutes mes études et qui m'a donné les meilleurs résultats. Le mycélium apparaît, sur un substratum formé de gélose, peptone, eau et glucose, au bout de vingt-quatre ou trente heures; très rapidement les tubes de cultures ou les ballons sont envahis par un mycélium abondant qui, examiné au microscope, montre surtout des sporanges et des œufs. Il y a peu de chlamydo-spores échinulées; elles ont un diamètre ordinaire (18 à 20 μ). Les tubes sporangifères sont bien développés; ils peuvent atteindre souvent une hauteur de 400 à 450 μ ; dans leur plus grande largeur, ils ont de 12 à 20 μ . Les œufs, arrondis, légèrement discoïdes, ont un diamètre qui peut varier de 250 à 800 μ .

Avec le *lévulose* on obtient également des cultures très abondantes; le mycélium est d'abord assez rare et s'étend à la surface du milieu nutritif en donnant des chlamydo-spores échinulées dont le diamètre est de 18 à 22 μ ; un peu plus tard les filaments se dressent abondamment et il apparaît des sporanges et des œufs; les tubes sporangifères ont de 350 à 370 μ de hauteur, et de 15 à 20 μ de largeur; les spores ont de 8 à 12 μ de diamètre.

Avec le *galactose* on obtient dans les tubes ou les ballons de culture un mycélium très abondant comme dans le cas du glucose; les fructifications sont aussi représentées par des chlamydo-spores échinulées, puis par des sporanges et des œufs; ces fructifications présentent sensiblement les mêmes dimensions que celles qu'on obtient avec le glucose.

Avec les sucres qui suivent et qu'on peut ranger dans la classe des glucosides, on obtient des résultats un peu différents.

Avec le *lactose* on a un mycélium peu abondant, constitué surtout par des filaments qui se dressent en petit nombre contre la paroi des tubes de culture; les formes reproductrices qu'on observe au microscope sont des chlamydo-spores échinulées et des sporanges renfermant une vingtaine de spores ovales dont le diamètre varie de 8 à 11 μ ; les tubes sporangifères sont très hauts; ils atteignent jusqu'à 400 à 450 μ . Il n'y a pas d'œufs.

Avec le *saccharose*, les résultats sont identiques.

Avec le *maltose*, la spore donne un mycélium peu abondant

et les fructifications sont uniquement des chlamydospores échinulées dont le diamètre est de 18 à 20 μ . On ne trouve ni sporanges, ni œufs.

Avec le *raffinose* on obtient des chlamydospores et des sporanges avec spores arrondies; les tubes sporangifères ont de 350 à 400 μ , et leur plus grande largeur est de 12 à 15 μ . Il n'y a pas d'œufs.

Avec la *salicine* j'obtiens un mycélium très peu abondant; les fructifications sont représentées par des tubes sporangifères de 300 à 320 μ de hauteur, de 18 à 20 μ de largeur; les spores arrondies ont de 8 à 12 μ de diamètre; on trouve des chlamydospores de 16 à 20 μ de diamètre.

Dans les milieux gélosés où l'aliment nutritif est représenté par des matières amylacées, le résultat obtenu est différent, suivant que l'on emploie l'amidon ou la dextrine. On sait que cette dernière résulte de la transformation de l'amidon.

Dans les cultures à *amidon*, on obtient rapidement au bout de cinq à six jours un mycélium abondant, avec des filaments de grosseur normale dressés surtout contre les parois du tube; mais les seules fructifications obtenues sont des chlamydospores échinulées de 18 à 22 μ de diamètre; les sporanges et les œufs font défaut.

Dans les tubes de culture à *dextrine*, au contraire, le mycélium se présente avec le même aspect et la même abondance; mais les appareils reproducteurs présentent, en outre, des chlamydospores échinulées dont le diamètre est normal, des sporanges en assez grand nombre. Les tubes sporangifères ont une hauteur de 370 à 400 μ ; leur plus grande largeur est d'environ 15 à 20 μ ; les spores contenues dans le sporange globuleux sont arrondies et au nombre d'une vingtaine par sporange; elles ont un diamètre qui varie de 8 à 10 μ .

Les *alcools* peuvent constituer des aliments pour le *Mortierella polycephala*, mais il est à remarquer que le résultat des cultures est très variable suivant la constitution chimique de l'alcool employé et même suivant la structure moléculaire de ceux qui présentent la même constitution chimique.

Avec des alcools riches en carbone, le mycélium se développe assez bien; quand l'alcool en contient moins, le mycélium

est misérable et très réduit. J'ai observé les faits suivants :

Avec la *mannite*, le mycélium est assez développé, normal ; les filaments ont un diamètre ordinaire ; les chlamydospores échinulées, très nombreuses, apparaissent seules ; elles ont de 20 à 25 μ . Les sporanges et les œufs manquent.

Avec la *dulcite*, qui cependant présente la même composition chimique, j'obtiens un mycélium bien développé, assez abondant. Les fructifications qui apparaissent d'abord sont des chlamydospores échinulées, de 23 à 25 μ , puis des sporanges portés à l'extrémité de tubes sporangifères de 300 à 350 μ de hauteur, contenant de 20 à 25 spores ovales, de 9 à 12 μ de diamètre. Il n'y a pas d'œufs.

Avec la *quercite*, on obtient un mycélium peu abondant, présentant des stylospores et des sporanges. Les stylospores ont de 19-20 μ de diamètre ; les tubes sporangifères, hauts de 350 μ , renferment des spores arrondies de 7 à 10 μ de diamètre.

Des cultures faites avec de l'*érythrite* comme élément nutritif donnent un mycélium très bien développé ; mais comme fructifications, on y trouve ni sporanges, ni œufs, et les chlamydospores qu'on y rencontre en grande abondance ont des dimensions extrêmement variables, de 10 à 20 μ .

Dans un milieu *glycériné*, le mycélium bien développé donne naissance à des chlamydospores de 18 à 20 μ de diamètre ; on y trouve aussi des sporanges de 350 à 400 μ de hauteur et de 12 à 15 μ de largeur ; les spores arrondies ont un diamètre de 6 à 10 μ .

Pour étudier l'influence de l'*alcool éthylique*, je préparais d'abord le milieu gélosé peptonisé dans les mêmes proportions que précédemment ; je le stérilisais, puis, aseptiquement, le milieu étant maintenu liquide à 60°, j'y introduisais les proportions convenables d'alcool éthylique à 90°.

Dans une pareille culture, la végétation mycélienne est très misérable, les filaments peu nombreux présentent des chlamydospores et quelques œufs dont le diamètre peut aller de 250 à 600 μ .

On peut résumer les faits qui précèdent dans le tableau suivant :

	ALIMENT	MYCÉLIUM	APPAREIL reproducteur.	DIMENSIONS PRINCIPALES en μ .
Sucre fermentescible en C ⁶ .	Glucose	Très abondant, remplissant rapidement les tubes de cultures.	Sporanges et œufs.	Tubes sporangifères : Hauteur..... 400-450 μ . Plus gr ^d e largeur.. 12-20 μ .
	Galactose.....	Filaments dressés.	Stylospores échinulées.	Spores arrondies.... 10-12 μ . Œufs..... 250-800 μ . Stylospores..... 18-20 μ . Stylospores..... 18-22 μ .
	Lévulose	Mycélium d'abord rampant, puis filaments dressés très nombreux.	Stylospores échinulées, sporanges, œufs.	Tubes sporangifères : Hauteur..... 350-370 μ . Largeur..... 15-20 μ . Spores..... 8-12 μ . Œufs..... 250-800 μ .
	Salicine.....	Mycélium peu abondant.	Stylospores, sporanges, pas d'œufs.	Tubes sporangifères : Hauteur..... 300-320 μ . Largeur..... 18-20 μ . Spores arrondies.... 8-12 μ . Stylospores..... 16-20 μ .
Glucosides.	Raffinose	Mycélium abondant.	Sporanges, quelques stylospores, pas d'œufs.	Tubes sporangifères : Hauteur..... 350-400 μ . Largeur..... 12-15 μ . Spores arrondies.... 9-10 μ . Stylospores..... 16-20 μ .
	Maltose.....	Mycélium peu abondant.	Stylospores, ni sporanges ni œufs.	Stylospores..... 18-20 μ .
	Saccharose	Mycélium peu abondant constitué par des filam. dressés surtout contre la paroi du tube.	Stylospores et sporanges, pas d'œufs.	Tubes sporangifères : Hauteur..... 400-500 μ . Largeur..... 12-18 μ . Spores ovales..... 8-11 μ . Stylospores..... 20-15 μ .
	Lactose	Mycélium peu abondant.	Sporanges et stylospores, pas d'œufs.	Tubes sporangifères : Hauteur..... 400-450 μ . Largeur..... 12-18 μ . Spores ov. et arrond. 8-11 μ . Stylospores..... 20-25 μ .
Matières amylacées.	Amidon	Mycélium abondant.	Stylospores, sporanges.	Tubes sporangifères : Hauteur..... 370-400 μ . Largeur..... 15-20 μ . Spores arrondies.... 8-10 μ . Stylospores..... 18-20 μ .
	Dextrine.....	Filam. dressés surtout contre les parois du tube.....	Stylospores, ni sporanges, ni œufs.	Stylospores..... 18-22 μ .
	Mannite.....	Mycélium peu abondant.	Stylospores, ni sporanges, ni œufs.	Stylospores..... 20-25 μ .
	Dulcite	Mycélium bien développé.	Stylospores, sporanges.	Tubes sporangifères : Hauteur..... 300-350 μ . Largeur..... 15-18 μ . Spores ovales..... 9-12 μ . Stylospores..... 23-25 μ .
Alcools.	Quercite.....	Mycélium peu abondant.	Sporanges et stylospores.	Tubes sporangifères : Hauteur..... 320-370 μ . Largeur..... 18-20 μ . Spores arrondies.... 7-10 μ . Stylospores..... 19-20 μ .
	Érythrite	Mycélium assez abondant.	Stylospores, ni sporanges ni œufs.	Stylospores..... 10-20 μ .
	Glycérine.....	Mycélium assez abondant, dressé.	Sporanges, stylospores.	Tubes sporangifères : Hauteur..... 350-400 μ . Largeur..... 12-15 μ . Spores arrondies.... 6-10 μ . Stylospores..... 18-20 μ .
	Alcool éthyl.	Mycélium très réduit, filam. peu nombr.	Stylospores et quelques œufs.	Stylospores..... 18-20 μ . Œufs..... 250-600 μ .

Dans toutes ces expériences relatives à l'influence du milieu, les tubes de culture ont été stérilisés à l'autoclave en milieu neutre. De la sorte, le sucre n'a pas été modifié par la chaleur. Les cultures ont été suivies depuis l'ensemencement jusqu'au moment de l'apparition des fructifications.

L'observation de l'apparition des premiers filaments a permis de conclure que la germination se fait partout dans le même temps, sauf dans les cultures à alcool où elle est plus lente.

Dans ces cultures faites en tubes de Roux ou dans des ballons Pasteur, le mycélium apparaît généralement au bout de trente-six à quarante-huit heures.

L'examen du tableau précédent, qui résume les faits observés, permet donc de conclure ce qui suit :

1° Le mycélium du *Mortierella polycephala* se développe abondamment en présence du glucose, du galactose et du lévulose. Il se développe moins bien en présence des glucosides (salicine, lactose, saccharose, raffinose), et des alcools (mannite, érythrite, glycérine).

2° Le glucose, le lévulose et le galactose favorisent l'apparition des sporanges et la formation des œufs.

3° Il en est de même de l'alcool, cependant très nuisible en général au développement du champignon, puisqu'une dose de 5 p. 100, dans un milieu gélosé, empêche la végétation de se produire.

J'avais pensé à rapprocher ce résultat de celui que donnent le galactose, le glucose et le lévulose. Dans ces milieux, le *Mortierella polycephala* donne des sporanges et des œufs : or ce sont des sucres directement fermentescibles. Et tout de suite une question se posait : la formation des œufs ne serait-elle pas précédée de la transformation de ces sucres en alcool et en gaz carbonique ? J'ai essayé de vérifier cette hypothèse en cultivant le *Mortierella polycephala* sur divers milieux (amidon, glucose, lévulose) : 1° dans le vide ; 2° dans le gaz carbonique.

Les résultats obtenus démontrent qu'il n'y a pas de fermentation de ces différents hydrates de carbone sous l'influence du *Mortierella polycephala* ; mes différentes analyses du milieu dans lequel s'est développé le champignon, ne donnent pas le droit de penser qu'il s'est formé de l'alcool pendant le dévelop-

pement. En tout cas, les différentes réactions chimiques qui permettent de déceler la présence de l'alcool, même en faible quantité, ne m'ont donné aucun résultat. La réaction du bichromate de potassium et de l'acide sulfurique, qui est assez sensible, réussit bien, mais comme elle a lieu en présence d'autres corps, tels que des aldéhydes, on ne peut rien en conclure. Tout au plus, peut-on affirmer que le *Mortierella polycephala* présente une singulière résistance à l'asphyxie. Il ne se développe pas, ou se développe très mal dans le vide où le mycélium apparaît comme un fin duvet à la surface du milieu nutritif et peut rester en cet état pendant plusieurs semaines sans produire de sporanges ou d'œufs. Plus tard, lorsqu'il est replacé dans les conditions normales, il peut continuer son développement avec une activité nouvelle, souvent très supérieure à celle qu'il présente habituellement et peut alors, selon le milieu, donner des sporanges ou des œufs.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Dans le travail qui précède, j'ai étudié les *Mortierellées* à un double point de vue, et l'on peut résumer comme il suit les conclusions auxquelles je suis arrivé :

A. Au point de vue de la systématique, le nombre des espèces distinctes de *Mortierella* peut être très réduit.

J'ai décrit une variété nouvelle, que j'ai dénommée *Mortierella cannabis* et deux espèces nouvelles, *Mortierella canina* et *Mortierella raphani*.

B. Au point de vue de la biologie du *Mortierella polycephala* :

1° J'ai observé l'existence des zygospores et j'ai pu, en examinant de nombreuses cultures, en suivre la formation ;

2° J'ai déterminé par l'ensemencement d'une seule spore le caractère « homothallique » de l'espèce ;

3° J'ai constaté que la germination du *Mortierella polycephala* se fait plus rapidement et l'accroissement plus vite lorsque le volume d'air offert au champignon est plus grand. L'influence du volume des récipients est donc à considérer à ce point de vue :

4° La température optima de germination est 27° pour le *Mortierella polycephala*, mais ce n'est pas la température optima pour la formation des sporanges et des œufs. Cette température se place entre 15 et 20° C. Au-dessous de 0° et au-dessus de 35°, la germination ne se fait pas, mais les spores et les stylospores ne sont pas tuées ; à 45° les spores et les stylospores sont tuées :

5° Le *Mortierella polycephala* est sensible à l'action de la lumière. Il germe et s'accroît plus lentement à l'obscurité, mais les fructifications ne sont pas modifiées. Le développement à la lumière continue se fait plus vite. Il est d'autant plus rapide que l'intensité lumineuse est plus grande, mais alors l'appareil reproducteur est réduit uniquement à des stylospores ;

6° Parmi les radiations lumineuses de différentes longueurs d'onde, les radiations violettes et ultra-violettes semblent indispensables à la germination du champignon étudié, mais les autres radiations le laissent à peu près insensible. Le champignon est plus sensible à l'intensité qu'à la longueur d'onde des radiations lumineuses ;

7° Les rayons X ont sur la germination du *Mortierella polycephala* une action nettement retardatrice ; les cultures soumises aux rayons de Röntgen se développent d'autant plus mal que l'action est plus prolongée ;

8° Les corps radio-actifs arrêtent la croissance du mycélium du *Mortierella polycephala* et empêchent la germination de la spore ; cette action est purement paralysante ;

9° Les rayons du radium provoquent l'apparition de kystes à l'intérieur des filaments ;

10° Les spores et le mycélium soumis à l'action du radium passent à l'état de vie latente ;

11° L'action de l'« émanation » du radium est plus nocive que celle du chlorure de radium. Elle arrête immédiatement la croissance du mycélium, provoque son enkystement et, si elle est suffisamment concentrée, peut empêcher la germination des spores ou des chlamydospores ;

12° La germination du *Mortierella polycephala* ne se fait pas dans une atmosphère desséchée, même lorsque le milieu nutritif est humide, s'il est protégé contre la dessiccation par un moyen quelconque. L'humidité de l'atmosphère a plus d'importance pour la croissance du champignon que l'humidité du substratum, quoique celle-ci ne soit pas à négliger ;

13° La croissance du champignon se fait très mal sous une pression de quelques millimètres et le *Mortierella* reste stérile. A 150 millimètres il se forme des sporanges et des chlamydospores. Les pressions supérieures à la pression atmosphérique gênent la croissance du mycélium sans l'empêcher. Les fructifications se font normalement ;

14° *L'influence du milieu nutritif est très importante* et je serais assez porté à la mettre en première ligne, avec la concentration et la température, pour l'explication de certains faits de la biologie du *Mortierella polycephala* ;

15° Dans un milieu nutritif liquide, le champignon pousse mal ; il se développe mieux sur un substratum solide ;

16° Sur les milieux solides dépourvus d'hydrates de carbone, le mycélium se développe plus ou moins suivant le milieu ; les fructifications sont représentées surtout par des sporanges ; il y a peu de stylospores. En revanche, les tubes sporangifères sont

richement ramifiés. Une nourriture appauvrie favorise la formation des sporanges, et comme j'ai toujours rencontré les zygospores en même temps que les sporanges, je considère que la formation des œufs est favorisée par une nourriture peu abondante ;

17° Parmi toutes les substances nutritives dont l'action se fait bien sentir dans le développement du *Mortierella polycephala*, il faut citer les *hydrates de carbone* ;

18° A la même dose d'aliment hydrocarboné, le développement des sporanges est favorisé par une faible teneur en eau de l'élément nutritif ;

19° La richesse en sucre du milieu nutritif favorise la formation des sporanges et des ramifications des tubes sporangifères. Au delà d'une concentration à 60 p. 100 de sucre, la germination n'a plus lieu ;

20° Parmi les différents hydrates de carbone, les sucres directement fermentescibles (glucose, galactose, lévulose favorisent la formation des sporanges et des zygospores ;

21° Les autres hydrates (maltose, lactose, saccharose, raffinose) peuvent donner des sporanges et des chlamydospores et la forme des spores peut être différente suivant le cas : tantôt les spores sont arrondies, tantôt elles sont ovales ;

22° L'amidon, la dextrine et les alcools divers donnent des résultats variables ; avec l'alcool ordinaire, on peut obtenir des zygospores, mais le mycélium est très peu développé ;

23° Il résulte de mes expériences que le *Mortierella polycephala* se développe parfaitement dans une atmosphère complètement privée d'oxygène, pourvu que les conditions de température, de concentration, d'humidité et surtout de nourriture soient favorables. Le champignon fabrique probablement lui-même avec les éléments qu'il trouve dans le milieu, l'oxygène dont il peut avoir besoin. Cependant il ne produit pas la fermentation du glucose.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

I. — Mucorinées en général.

1. J.-B. CARNOY, Recherches anatomiques et physiologiques sur les Champignons. *Bull. de la Soc. Roy. de Belg.*, t. IX, n° 2, 1870.
2. J. RAULIN, Études chimiques sur la végétation. Thèse Faculté des Sciences, Paris, 1870.
3. J. KLEIN, Zur Kenntniss des *Pilobolus*. *Jahrb. f. wissensch. Botanik.*, VIII, Heft 3, 1882.
4. DE BARY et WORONINE, Zur Kenntniss der Mucorineen. *Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze*, 2^e série, 1866.
5. VAN TIEGHEM et LE MONNIER, Recherches sur les Mucorinées. *Annales des Sc. nat. Bot.*, 5^e série, t. XVII, 1873.
6. PH. VAN TIEGHEM, Nouvelles recherches sur les Mucorinées. *Annales des Sc. nat. Bot.*, 6^e série, t. I, 1875.
7. PH. VAN TIEGHEM, Troisième mémoire sur les Mucorinées. *Annales des Sc. nat.*, 6^e série, 1876.
8. BREFELD, Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. Leipzig, 1872 III et 1881 IV.
9. BREFELD, *Botanische Zeitung*, 15 sept. 1876.
10. G. BAINIER, Observations sur les Mucorinées. *Ann. des Sc. nat. Bot.*, 6^e série, XV, 1883.
11. — Sur les zygosporées des Mucorinées. *Ibid.*
12. — Nouvelles observations sur les zygosporées des Mucorinées. *Ann. des Sc. nat.*, t. XIX, 1884.
13. P. VUILLEMIN, Études biologiques sur les Champignons. *Bull. Soc. des Sc. de Nancy*, 2^e série, t. VIII, fasc. XX, 1886.
14. ALF. DE WEWRE, Le noyau des Mucorinées. *Bull. Soc. roy. bot. de Belg.*, t. XXX, 1891.
15. P.-A. DANGEARD, *Le Botaniste*, 1890-1895.
16. — et M. LÉGER, Recherches sur la structure des Mucorinées. *C. R. Acad. des Sc.*, 19 févr. 1894.
17. — et M. LÉGER, La reproduction sexuelle des Mucorinées. *C. R. Acad. des Sc.*, 5 mars 1904.
18. M. LÉGER, Recherches sur la structure des Mucorinées. Thèse de la Faculté des Sciences, Paris, 1895.
19. P.-A. DANGEARD, La théorie de la sexualité. *Le Botaniste*, 6^e série, Poitiers.
20. — L'influence du mode de nutrition dans l'évolution de la plante. *Le Botaniste*, 6^e série, mars 1898.
21. L. MATRUCHOT, Sur une propriété particulière du protoplasma chez une Mucorinée, et sur une propriété générale des pigments bactériens et fongiques. *Miscellanées biologiques, dédiées au professeur Giard*, Paris, 1899.
22. — Une Mucorinée purement conidienne, *Cunninghamella africana*. *Annales mycologiquæ*, 1903.
23. KLEBS, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. *Jena*, 1896.
24. — Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze, *Sporodinia grandis*. *Jahrb. f. wiss. Botanik*, XXXII, Heft 1, 1898.

25. ALFR. LENDNER, Des influences combinées de la lumière et du substratum sur le développement des Champignons. *Ann. des Sc. nat.*, 8^e série, t. III, 1897.
26. DE BARY et WORONINE, Zur Kenntnis der Mucorineen (Beit. z. Morphologie und Physiologie der Pilze, II, 1866).
27. FR. SIEBENMANN, Die Fadenpilze *Aspergillus flavus, niger und fumigatus, Eurotium repens* und ihre Beziehungen zur otomycosis aspergillina, Wiesbaden, 1883.
- 27 bis, ELFVING, Studien über die Einwirkung des Lichtes auf die Pilze, Helsingfors, 1890.
28. H. BACHMANN, Einfluss der äusseren Bedingungen auf die Sporenbildung von *Thamnidium elegans* Link. Lucerne, 1895.
29. D^r G. BOHN, Influence des rayons du radium sur les œufs vierges et fécondés et sur les premiers stades du développement. *C. R. Acad. des Sc.*, 1903.
30. FR. BLAKESLEE, Sexual reproduction. *Proc. Amer. Ac. Arts and Sc.*, vol. XL, n^o 4, 1904.
31. — Zygosporos germination. *Annales mycologicæ*, vol. IV, 1, 1906.
32. — Différenciation of sex in thallus gametophyte and sporophyte. *The Botanical Gaz.*, 1906.
33. — Zygosporos and sexual strains in the common tread mould, *Rhizopus nigricans*. *Science*, XXIV, 1906.

II. — Mortiérellées.

34. COEMANS, Quelques Hyphomycètes nouveaux. *Bull. Soc. roy. Acad. de Belg.*, 2^e série, XV, 1863.
35. D^r C. O. HARZ, *Bull. Soc. impér. nat. Moscou*, XLIV, 1871.
36. VAN TIEGHEM et LE MONNIER, Recherches sur les Mucorinées. *Ann. des Sc. nat.*, 5^e série, XVII, 1873.
37. VAN TIEGHEM, Nouvelles recherches sur les Mucorinées. *Ibid.*, 6^e série, I, 1875.
38. VAN TIEGHEM, Troisième mémoire sur les Mucorinées. *Ibid.*, IV, 1876.
39. SOROKINE, Ueber die Wirkung des Lichtes auf der Pilze. *Arbeit. d. naturf. Ges. Kasan*, 1874.
40. BREFELD, *Mortierella Rostafinskii*. *Sitz. Ges. naturf. Fr. Berlin*, 1876.
41. J. THIERRY et THIERRY, Nouvelles espèces de Mucorinées du genre *Mortierella*. *Revue mycolog.*, 1882.
42. W. B. GROVE B. A. New or Noteworthy fungi, *Journ. of Botany*, 1885.
43. COSTANTIN, Sur un nouveau Mortierella. *Bull. Soc. mycol. de France*, 1888.
44. A. L. SMITH, New or rare British fungi. *Journ. of Botany*, XXXVI, 1897.
45. H. BACHMANN, Beiträge zur Physiologie der Pilze. *Jahrb. für wissenschaft. Botanik*, 1900.
46. MATRUCHOT, Sur une structure particulière du protoplasma chez une Mucorinée. *Miscellanées biol.*, 1900.
47. OUDEMANS et KONING, Phycomycètes nouveaux. *Arch. néerlandaises des Sc. ex. et nat.*, 2^e série, VII, 1902.
48. ELIE MARCHAL, Champignons coprophiles de Belgique. *C. R. Soc. roy. Bot. Belgique*, t. XXIX.
49. J. DAUPHIN, Influence des rayons du radium sur le développement et la croissance des champignons inférieurs (*C. R. Ac. des Sc.*, 1904).
50. — Sur l'appareil reproducteur des Mucorinées (*C. R. Ac. des Sc.*, 1904).
51. — Nouvelles recherches sur l'appareil reproducteur des Mucorinées (*C. R. Ac. des Sc.*, 1905).

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

1° ZOOLOGIE. — Anatomie, embryogénie et biologie des Échinides.

2° GÉOLOGIE. — Mode de formation des combustibles fossiles.

Vu et approuvé : Paris, le 11 mai 1908.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

PAUL APPELL.

Vu et permis d'imprimer : Paris, le 11 mai 1908.

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,

L. LIARD.

